ARCHIV FÜR HYGIENE UND BAKTERIOLOGIE

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER, W. SILBERSCHMIDT,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN ZÜRICH.

ZWEIUNDSECHZIGSTER BAND.

Mit 6 Abbildungen und 4 Tafeln.



MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1907.

Inhalt.

Bedeutung und Nachweis des Bacterium coli im Wasser und eine neue Modifikation der Eijkmanschen Methode.[1])

Von

Dr. Jaromír Bulíř,
Assistent am Institute.

(Aus dem k. k. hygienischen Institut des Prof. Dr. Gustav Kabrhel in Prag.)

Das Eindringen von Bestandteilen der Fäkalien, insbesondere von in denselben enthaltenen Mikroben in das Grundwasser, kann durch verschiedenartige Umstände verursacht werden; es geschieht insbesondere an solchen Stellen, wo sich in den Bodenschichten Risse vorfinden, mittels welcher dann die Sammelorte der Fäkalien mit dem Grundwasser in direkter Verbindung stehen, oder bei gleichmäfsigen, kompakten Bodenschichten (Anschwemmungen), wo der Filtrationseffekt der Schichten, die sich zwischen den verunreinigten Stellen (Senkgruben, Kanälen usw.) und dem Grundwasser befinden, ungenügend ist.

Endlich ist es bei mangelhafter Beschaffenheit eines Brunnens (Ausmauerung, Herstellung der Terrainoberfläche in der Umgebung desselben) oder bei fehlerhafter Fassung einer Quelle, die Verunreinigung des Wassers direkt von der Oberfläche möglich.

Bei Erwägung des Umstandes, dafs Fäkalien pathogene Mikroben enthalten können, die dann auch in das Wasser übergehen und bei Gebrauch desselben nicht nur einzelne Erkrankungen sondern auch Epidemien verursachen können, wie dies bei Typhus,

1) Der böhm. Kaiser-Franz-Josephsakademie vorgelegt am 19. I. 1907.

Cholera, Dysenterie usw. der Fall ist, wird die, bei Gebrauch eines durch Fäkalien verunreinigten Wassers entstehende Gefahr begreiflich. Es ist daher klar, warum eine Methode zur Feststellung einer derartigen Verunreinigung des Wassers intensiv gesucht wurde.

Seinerzeit glaubte man mit chemischen Methoden zur Feststellung einer fäkalen Verunreinigung des Wassers ausreichen und auf Grund der Bestimmungen von Ammoniak, salpetriger Säure und der organischen Stoffe, eventuell von Chlor und Salpetersäure, entscheiden zu können, ob das geprüfte Wasser einwandfrei oder schädlich ist. Mit der Zeit stellte sich jedoch heraus, dafs diese Bestimmungen für sich allein nicht genügen, ja dafs sie sogar in manchen Fällen zu Irrtümern führen. Obwohl ein gröfserer Gehalt an Ammoniak, salpetriger Säure und organischen Stoffen im Grundwasser den Verdacht auf fäkale Verunreinigung erweckt, ist eine solche durch denselben noch absolut nicht nachgewiesen, denn es sind Fälle vorgekommen, wo diese Bestandteile des Wassers als Stoffe vegetabilisch-organischen Ursprungs erkannt wurden. Werden anderseits die erwähnten verdächtigen Bestandteile im Wasser nicht vorgefunden, so ist dadurch noch nicht nachgewiesen, dafs eine fäkale Verunreinigung des geprüften Wassers nicht vorliege; so zeigte z. B. Kabrhel(1) einen Fall, in welchem die bakteriologische Analyse und der lokale Augenschein die fäkale Verunreinigung zweifellos bewies, wogegen die chemischen Methoden auf diesen Umstand nicht aufmerksam gemacht haben.

Es wurde also das Augenmerk den bakteriologischen Methoden zugewandt und das Bacterium coli commune, Escherich, dieser regelmäfsige Bewohner des Darminhaltes bei Mensch und Tier, als Indikator der fäkalen Verunreinigung des Wassers vorgeschlagen; dies fand viele Anhänger aber auch zahlreiche Gegner, die das Bacterium coli für einen ubiquiten (überall anwesenden) Mikroorganismus erklärten, der überall in der Luft, im Boden, im Wasser vorgefunden wird, gleich ob diese fäkal verunreinigt sind oder nicht. Die Ansichten der Anhänger und Gegner der Ubiquitätslehre wurden bereits vielfach besprochen und ich

glaube daher berechtigt zu sein, dieselben nicht zu wiederholen und nur auf die Arbeiten von Kaiser(2), Christian(3), Eijkman(4) und Neumann(5) hinweisen zu können.

Durch den Vergleich aller in den genannten Arbeiten zitierten Ansichten kommen wir jedoch zu dem Schlufs, dafs dem typischen Bacterium coli, das wahrscheinlich aus dem Darminhalt stammt, eine gewisse Bedeutung als Indikator der fäkalen Verunreinigung nicht abgesprochen werden darf. Um zu bestimmen, ob der gefundene Kolibazillus aus einem menschlichen Darm stammt, fehlt uns allerdings bisher noch jede Methode, doch kann durch diesen Mangel die Bedeutung des Bacterium coli als Indikator nur wenig abgeschwächt werden, denn es ist unbestreitbar, dafs da, wo die örtlichen Verhältnisse eine Verunreinigung des Wassers mit Tierfäkalien zulassen, auch das Eindringen der menschlichen Exkremente nicht ausgeschlossen ist.

Es ist selbstverständlich, dafs der Fachmann, dem die Begutachtung des Wassers anvertraut ist, bei der örtlichen Inaugenscheinnahme und Entnahme der Proben derart vorgehen mufs, dafs eine eventuelle zufällige Verunreinigung ausgeschlossen wird, wozu allerdings keine Regeln oder Vorschriften angegeben werden können, da die Umstände und Verhältnisse in verschiedenen Fällen verschieden sind, und der Prüfende sich von Fall zu Fall den bei der Arbeit einzuschlagenden Weg selbst bestimmen mufs. In den Ergebnissen einer derart richtig durchgeführten Analyse (allerdings in Verbindung mit der bakteriologischen und chemischen Analyse) findet dann der Prüfende die Bestätigung der Ansicht, die er sich bei der örtlichen Inaugenscheinnahme über das betreffende Wasser gemacht hat.

Es frägt sich nun, warum die Ergebnisse und Ansichten, welche die Bedeutung des Bacterium coli im Wasser betreffen, bei verschiedenen Autoren so verschieden sind?

Es scheint, dafs die Ursache in dem Umstand zu suchen wäre, dafs

1. nicht immer mit allen diagnostischen Behelfen gesucht wurde, ob der gefundene als Bacterium coli bezeichnete

Mikroorganismus sämtliche morphologische und biologische Eigenschaften des typischen Bacterium coli aufweise und
2. dafs zur Isolation verschiedene Methoden benutzt werden, deren Empfindlichkeit sehr verschieden ist, was noch dadurch kompliziert wird, dafs bei jeder Methode ein anderes Quantum des zu prüfenden Wassers, und zwar von 1 ccm bis zu 1 l zur Benutzung gelangt.

Bezüglich des sub 1. Erwähnten bezeichnet man heute als das typische Bacterium coli ein kurzes, mehr oder minder bewegliches Stäbchen, das auf Gelatine charakteristische, weinblattförmige, bläulich durchscheinende, nicht verflüssigende Kolonien bildet und sich nach Gram nicht färbt. Dasselbe ist fakultativ anaerob, welches in zuckerhaltigen Nährböden Gärung verursacht, die sich durch Gas- (insbesondere CO_2-) und Säure- (insbesondere Milchsäure-) Bildung bemerkbar macht. Die Fähigkeit, das Neutralrot zu reduzieren und auf Kartoffeln üppig und charakteristisch zu wachsen, bildet eine weitere wichtige Eigenschaft des Bacterium coli. Die Indolbildung in Bouillonkulturen und die Tierpathogenität sind nicht unbedingt erforderliche Eigenschaften eines jeden Bacterium coli-Stammes, denn es ist zweifellos festgestellt, dafs echte Kolistämme bestehen, welche die eine oder die andere der letztgenannten Eigenschaften entbehren.

Was die sub 2. angeführten, zur Isolation des Bacterium coli aus dem Wasser dienenden Methoden betrifft, so setzt sich die Mehrzahl derselben aus zwei Operationen zusammen:

a) aus einer Anreicherung des Bacterium coli im Wasser,

b) aus der Isolation desselben auf Gelatine, Agar oder Drigalski-Conradis Platten und Prüfung der so gewonnenen Kolonien durch Anwendung diagnostischer Behelfe.

Die Anreicherung hat den Zweck, das Wachstum des Bacterium coli zu unterstützen oder dasselbe wenigstens nicht zu hindern, dagegen die übrigen im Wasser enthaltenen Mikroben im Aufwachsen zu hemmen, was durch Zusatz von Chemikalien, durch saure oder alkalische Reaktion, durch Anwendung einer höheren Temperatur bei der Anreicherung, oder durch verschiedene Kombinationen der genannten Mittel erzielt wird.

Ich habe längere Zeit hindurch vier von diesen Methoden verglichen, und zwar habe ich mit denjenigen von Parietti(6), Levy und Bruns(7), Lignièr(8) und Eijkman (l. c.) gearbeitet. Was die übrigen Methoden betrifft, so verweise ich wiederum auf die Arbeiten von Kaiser, Eijkman und Christian hin, in welchen dieselben beschrieben und besprochen werden.

Die Methode Pariettis empfiehlt folgende Anreicherung des Bacterium coli: Drei Eprouvetten, die gleiche Mengen steriler Bouillon enthalten, werden mittels einer wässrigen Lösung von 5 proz. Phenol und 4 proz. konz. Salzsäure so angesäuert, dafs zum ersten Röhrchen 3, zum zweiten 6 und zum dritten 9 Tropfen dieser Lösung zugefügt werden. Dieses Verfahren wird noch zweimal wiederholt, so dafs zu jedem Versuche drei Serien zu je drei in der angedeuteten Weise beschickten Bouillonröhrchen, also im ganzen neun Eprouvetten nötig sind. In die Röhrchen der ersten Serie werden je 4 Tropfen (ca. 0,2 ccm) der zweiten je 8 Tropfen (ca. 0,4 ccm) und der dritten je 12—16 Tropfen (ca. 0,6—0,8 ccm) des zu prüfenden Wassers zugefügt. Es ist klar, dafs hier empirisch das für das Wachstum des Bacterium coli günstigste Verhältnis von Phenol und Salzsäure gesucht wird. So hergerichtete Bouillonröhrchen bleiben dann im Thermostaten bei 37 °C 24—48 Stunden, und im Falle sich die Bouillon trübt, werden dann aus derselben Platten gegossen und auf den letzteren gewachsene Kolonien in Milch, Neutralrot-Agar und Glukose-Gelatine geprüft.

Diese Methode gibt im grofsen und ganzen befriedigende Resultate; doch ihre Empfindlichkeit ist sehr gering, was auch begreiflich ist, da erstens das Wachstum von Bacterium coli durch den Zusatz von Phenol und Salzsäure auch teilweise gehemmt wird, zweitens aber zu kleine Mengen von dem zu prüfenden Wasser in Arbeit genommen (0,2—0,8 ccm) werden. Aufserdem braucht man zur Isolierung des Bacterium coli und Prüfung auf alle Reaktionen minimal drei Tage, und zwar selbst wenn zur Isolation Agarplatten angewendet worden sind.

Die zweite Methode von Levy und Bruns zieht die Anreicherung aller bei 37 °C wachsenden, im Wasser befindlichen

Mikrobenarten vor und bewirkt dies durch Zusatz von 1 proz. Pepton und 1 proz. Kochsalz zu dem geprüften Wasser, läfst sodann diese Mischung im Brutschrank bei 37°C 48 Stunden verharren. Von dieser Flüssigkeit werden 1—2 ccm einem Versuchstiere (gewöhnlich Meerschweinchen) intraperitoneal eingespritzt. Ist Bacterium coli anwesend, so stirbt das Versuchstier bald, und es ist dann möglich, das Bacterium coli aus der Leiche mittels Platten zu isolieren und weiteren Prüfungen zu unterziehen.

Diese Methode basiert auf der Tierpathogenität des Bacterium coli; wie ich aber oben erwähnt habe, mufs nicht jeder Stamm des echten Bacterium coli für Tiere pathogen sein, und folglich kann es bei der Durchführung dieser Methode vorkommen, dafs das Versuchstier am Leben bleibt, wenn auch das geprüfte Wasser einen echten, aber nicht pathogenen Stamm des Bacterium coli enthalten hat. Weiterhin finden im Peritoneum auch andere im Wasser enthaltene Mikroben für ihr Wachstum günstige Bedingungen, besonders die Fäulnisorganismen (Bacterium proteus), welche dann die Isolation des Bacterium coli erschweren oder sogar ganz unmöglich machen. Auch im besten Falle, wenn die Isolation gelingt, ist diese Methode zu langwierig; sie erheischt mindestens 4 Tage, vorausgesetzt, dafs das Versuchstier in 24 Stunden stirbt, und dafs zur Isolation Drigalski-Conradis Platten angewendet werden.

Bei der dritten Methode von Lignier wird ein aus »süfsem« Heu bereitetes Infusum als Nährflüssigkeit angewendet; (600 g Heu auf 5 l Wasser); dieses wird im Autoklaven sterilisiert und mit dem geprüften Wasser so vermengt, dafs auf 3 Volumen Wasser 1 Volumen Heuinfusum kommt. Diese Mischung wird dann bei Bruttemperatur 24 bis 48 Stunden gehalten und nachher auf Platten weiter verarbeitet. Die saure Reaktion und der Tanningehalt des Heuinfusums sollen nur dem Bacterium coli Wachstum gewähren, das Vermehren der andern Mikroben dagegen zurückhalten.

Kaiser arbeitete mit dieser Methode und gibt ihr ein gutes Zeugnis, mufs jedoch gleichzeitig gestehen, dafs ihn dieselbe in einigen Fällen gänzlich im Stiche gelassen hat.

Einen grofsen Nachteil dieser Methode bildet die Unmöglichkeit, das zur Bereitung der Nährflüssigkeit verwendete Ausgangsmaterial, das »süfse« Heu, in präziser Weise zu definieren, denn die Zusammensetzung desselben ist Sache des Zufalls und folglich variiert auch die Zusammensetzung des Heuinfusums sehr.

Bei den mit Hilfe dieser Methode unternommenen Versuchen habe ich wahrgenommen, dafs nicht nur das Bacterium coli, sondern auch zahlreiche andere Mikroben das Heuinfusum gut vertragen und sich darin so vermehren, dafs hiedurch das Bacterium coli manchmal gänzlich unterdrückt und seine Isolation unmöglich gemacht wird. Diese Erfahrung habe ich bei dem im Herbste v. Js. in der Nähe der Sofieninsel in Prag geschöpften Moldau-Wasser gemacht. In diesem Falle war es ein, im Moldau-Wasser zeitweise vorkommendes, kurzes, unbewegliches Stäbchen, welches die Gelatine-Platten so schnell peptonisiert hat, dafs dieselben in 24 bis 48 Stunden bei spärlicher Besäung gänzlich verflüssigt waren, und welches durch sein energisches Wachstum im Heuinfusum die Kolibazillen gänzlich unterdrückt und die Anwendung dieser Methode unmöglich gemacht hat. Die Isolation des Bacterium coli ist in diesem Falle mit Pariettis Methode gut gelungen.

In der letzten Zeit hat Eijkman eine neue Methode zur Feststellung fäkaler Verunreinigungen des Wassers vorgeschlagen: Zu dem geprüften Wasser wird $^1/_8$ seines Volumens Flüssigkeit zugegeben, die 10 proz. Pepton, 10 proz. Glukose und 5 proz. Kochsalz enthält; diese Mischung wird in Gärkölbchen gefüllt und in einen auf 46° gehaltenen Thermostat gestellt. Ist das Wasser fäkal verunreinigt, so zeigt sich gewöhnlich im Laufe von 24, längstens von 48 Stunden starke Gasbildung, und der Inhalt der Kölbchen trübt sich diffus. Bei reinen, einwandfreien Wässern kommen diese Reaktionen nicht zum Vorschein, und erst nach 48 Stunden trübt sich die Flüssigkeit im offenen Arm des Röhrchens unwesentlich. Ist das Ergebnis des Versuches positiv, so findet man bei Untersuchung der getrübten Flüssigkeit unter dem Mikroskope, dafs dieselbe schwach be-

wegliche Stäbchen und hie und da andere Mikroorganismen als Verunreinigung enthält; oft stellt sie aber beinahe eine Reinkultur eines Mikroben dar, der durch seine Erscheinung und Eigenschaften dem Bacterium coli entspricht, wie ich mich öfters durch Isolation auf Platten überzeugt habe.

Man kann allerdings nicht die Behauptung aufstellen, dafs es sich hier immer um ein echtes Bacterium coli handelt und Eijkman selbst macht darauf aufmerksam, dafs er im Humus und Kompost Mikroben gefunden habe, welche bei 46° eine starke Gasbildung zeigen, die jedoch keine echten B. coli sind. Es wurde jedoch nicht nur durch Eijkman, sondern auch durch Christian ganz zweifellos empirisch festgestellt, dafs einwandfreies Wasser niemals bei 46° und bei den oben angeführten Bedingungen die genannte Reaktion (Gasbildung) zeigt, fäkal verunreinigtes Wasser dagegen zeigt unter den gleichen Verhältnissen stets eine reichliche Gasbildung, wovon ich mich auch durch eigene Versuche überzeugt habe.

Manchmal bildet sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit im offenen Arm des Gärkölbchens ein Häutchen, welches sich bei der mikroskopischen Untersuchung neben einigen wenigen andern Mikroorganismen als aus sporenbildenden, dicken Stäbchen zusammengesetzt erweist. Das Wachstum der letzteren ist durch den Zutritt der freien Luft bedingt, denn in dem geschlossenen Arm sind sie nicht vorzufinden und nehmen folglich auf das Resultat des Versuches keinen Einflufs. Eijkman meint, dafs die Buttersäurebazillen dieselben Erscheinungen wie das Bacterium coli hervorrufen könnten; zieht man jedoch die langsame Vermehrung der Buttersäurebazillen in Betracht, so wird man kaum voraussetzen können, dafs dieselben in der kurzen Dauer des Versuches (ca. 24 Stunden) so anwachsen, um zu einem Irrtum Anlafs geben zu können. Bei meinen Versuchen bin ich ihnen nie begegnet und auch Christian hat sie nie vorgefunden.

Bei der Prüfung verschiedener Wässer konnte ich nach positivem Ausgange des Versuches den gasbildenden Mikroben stets mit gutem Erfolge auf Platten isolieren, mit Hilfe diag-

nostischer Mittel prüfen und bei demselben in den meisten Fällen alle Eigenschaften des Bacterium coli vorfinden. Durch diese Erfolge hat die Methode Eijkmans in mir ein grofses Vertrauen erweckt. Die Empfindlichkeit derselben ist eine so grofse, dafs ich noch in 0,01 ccm des bei der Karlsbrücke in Prag geschöpften Moldauwassers eine deutlich positive Reaktion wahrnehmen konnte. Christian hat festgesetzt, dafs 0,000001 ccm der berliner Kanaljauche, 0,0001 ccm filtriertes Rieselwasser und 0,001 ccm Spreewasser stets einen positiven Ausfall der Proben gegeben haben.

Neumann meint, »dafs durch die Bebrutung bei 46° in Zuckerbouillon sicherlich sehr viele Bakterien zurückgehalten oder abgetötet werden, dafs also eine gewisse Auswahl statthat. Ob aber dabei auftretende Vergärung als solche bereits für das Vorhandensein von Koli als beweisend anzusehen ist, kann erst eine weitere gröfsere Anzahl von Untersuchungen lehren, bei denen der Kolikeim noch regelmäfsig zu isolieren ist.«

Meiner Ansicht nach wird man auch bei einer grofsen Zahl von Versuchen nicht weiter kommen, denn, wie ich schon einmal erwähnt habe, hat **Eijkman** selbst nachgewiesen, dafs die Gasbildung bei 46° auch durch Mikroben, die **kein echtes Bacterium coli sind**, hervorgerufen werden kann; leider führt er nicht an, welche typische Reaktion gefehlt hat. Ich halte es für vorteilhafter, diese Methode derart zu modifizieren, dafs sie zu erkennen gestattet, ob der bei 46° Gas bildende Mikrobe auch Säure bildet und das Neutralrot reduziert. Dann erscheinen alle typischen Reaktionen des Bacterium coli in einem, in 24 Stunden beendeten Versuche verbunden.

Die Feststellung der Säurebildung war im grofsen und ganzen einfach, und zwar habe ich dieselbe nach Beendigung des Versuches durch Zusatz blauer Lackmustinktur von bestimmter Alkalität (deren Herstellung ich später angeben werde) zu der gasbildenden Flüssigkeit durchgeführt.

Von besonderer Wichtigkeit war nun die Lösung der Frage, wie die Fähigkeit des gasbildenden Mikroben das Neutralrot zu reduzieren bestimmt werden könnte, welche Eigenschaft, wie Rothberger(9) zeigte, für das Bacterium coli so charakteristisch ist. Die Reduktion kann allerdings nur im geschlossenen Arm geschehen, in welchem der Zutritt des Luftsauerstoffes beschränkt, und die Rück-Oxydation des reduzierten Farbstoffes nicht möglich ist.

Gleich die ersten Versuche haben gelehrt, dafs bei den, durch die Eijkmansche Methode statuierten Bedingungen die Entfärbung nicht stattfindet. Ich habe weiterhin festgesetzt, dafs das Bacterium coli in keinem der üblichen, flüssigen Nährböden das Neutralrot entfärbt; dies trifft einzig nur in der gewöhnlichen, nach bekannter Vorschrift aus Fleisch bereiteten Bouillon ein, so dafs dieselbe nicht einmal durch eine aus Liebigs Fleischextrakt bereiteter Bouillon ersetzt werden kann. Dieser interessante Umstand ist wahrscheinlich dadurch bedingt, dafs der konzentrierte Liebigs Fleischextrakt infolge der zum Verdampfen (bei der Fabrikation) benutzten und längere Zeit hindurch einwirkenden höheren Temperatur in seiner chemischen Beschaffenheit von dem aus frischem Fleische bereiteten Extrakt bedeutend verschieden ist.

Diese Erfahrungen haben mich belehrt, dafs die gewöhnliche aus Fleisch bereitete Bouillon als Nährflüssigkeit für meine Zwecke geeignet ist; da sie aber die Nährstoffe in verdünnter Lösung enthält, und durch Zusatz derselben das geprüfte Wasser eine zu grofse Verdünnung erfahren möchte, habe ich eine Bouillon von höherer Konzentration angewandt, worüber ich später Mitteilung machen werde.

Weiterhin habe ich bemerkt, dafs die Reduktion von Neutralrot durch das Bacterium coli langsamer bewirkt wird, wenn in der Bouillon Glukose mitanwesend ist; diese Erscheinung läfst sich in der Weise erklären, dafs die in der Lösung enthaltene noch nicht vergorene Glukose selbst einen Teil der Reduktionsfähigkeit des Bacterium coli verbraucht und selbst, als aldehydischer Zucker in Sorbit reduziert wird. Aus diesem Grunde

habe ich für meine weiteren Versuche anstatt Glukose Mannit, einen alkoholischen Zucker, angewandt, der als solcher nicht weiter reduziert werden kann. Das Bacterium coli vergärt Mannit ebensogut wie Glukose.

Ich schreite nunmehr zur Beschreibung der Modifikationen der Eijkmanschen Methode, wie ich sie auf Grund der oben angeführten Erfahrungen ausgebildet habe.

Die Bereitung von Mannit-Bouillon ist die folgende:

Zur Bereitung von 1 l dieser Nährflüssigkeit wird 1 kg feingehacktes Rindfleisch mit 2 l Wasser 24 Stunden mazeriert und dann durch Leinwand filtriert und ausgeprefst; zu dem auf solche Weise gewonnenen 1 l Fleischextrakt werden 25 g Pepton Witte, 15 g Kochsalz und 30 g Mannit hinzugefügt und weiter wie bei der Bereitung der gewöhnlichen Bouillon vorgegangen; d. h. die Flüssigkeit wird 1 ½ Stunden über einer Flamme gekocht, mit Sodalösung neutralisiert, sodann filtriert und 2 Stunden im strömenden Dampf sterilisiert.

Diese Bouillon wird mit dem geprüften Wasser in der Weise vermengt, dafs auf 2 Volumen Wasser 1 Volumen Bouillon kommt; also z. B auf 100 ccm Wasser 50 ccm Mannit-Bouillon. Zu dieser Mischung werden nun 2% einer sterilisierten Wasserlösung von Neutralrot (0,1 g Neutralrot in 100 ccm destilliertes Wasser), also auf je 150 ccm der Mischung 3 ccm der Neutralrotlösung beigefügt. Nun wird diese Flüssigkeit in 7—10 Gärröhrchen[1]) von je 15—20 ccm Inhalt gefüllt und im Thermostaten bei 46° gehalten.

Diese Temperatur mufs mit Hilfe eines präzisen Thermometers kontrolliert werden; sie darf niemals 46° übersteigen und auch nie unter 45,5° sinken, was bei der Anwendung eines empfindlichen Regulators gut gelingt.

---

1) Gärröhrchen kann man aus Glasröhren herstellen, indem man dieselben knieartig in einem Winkel von ca. 60° umbiegt und an einem Ende zuschmilzt. Diese Röhrchen vertragen die Sterilisation durch Hitze gut und sind einfach und billig herzustellen.

Ist das Bacterium coli im geprüften Wasser anwesend, so findet man nach 12—24 Stunden den geschlossenen Arm des Gärröhrchens teilweise mit Gas gefüllt, die Flüssigkeit diffus getrübt, und ihre früher rote Farbe erscheint in eine gelbe, grünfluoreszierende verwandelt.

Dann werden mit einer Pipette 10 ccm der Flüssigkeit aus dem Gärröhrchen entnommen und in einer Eprouvette mit 1 ccm alkalischer Lackmustinktur versetzt. Die letztere wird bereitet, indem man zu 100 cm Lackmustinktur von Kahlbaum (dient auch zur Bereitung des Drigalski-Conradi-Agars) 2 ccm Normal-Natronlange beifügt.

Reagiert die dem Gärröhrchen entnommene Flüssigkeit entsprechend sauer, so entsteht nach Zugabe der Lackmustinktur eine rein rote Färbung; ist die Flüssigkeit neutral oder schwach sauer, so färbt sie sich violett.

In manchen Fällen könnte man wohl eine Lackmustinktur von gröfserer Alkalität anwenden; ich habe jedoch eine solche wählen müssen, die für alle Fälle geeignet erscheint. Die Menge der gebildeten Säure ist nämlich teils von der Menge des Bacterium coli im Wasser, teils von der Dauer des Versuches abhängig. Auch die temporäre Härte des Wassers wirkt auf den resultierenden Säuregehalt, denn das Kalzium- und Magnesiumbikarbonat, welche die temporäre Härte verursachen, neutralisieren einen Teil der gebildeten Säure.

Die Reduktion von Neutralrot verzögert sich manchmal; doch verrät, selbst wenn dieselbe noch nicht vollendet ist, schon die Fluoreszenz der Flüssigkeit eine teilweise Entfärbung. Um in solchen Fällen die vollständige Entfärbung zu erzielen, muss das Röhrchen noch einige weitere Stunden im Thermostat bei 46^0 gehalten werden.

Enthält das geprüfte Wasser kein Bacterium coli, dann bleibt die Flüssigkeit klar, rot gefärbt, neutral, und es bildet sich kein Gas.

Es ist vorteilhaft, zur Probe 100 ccm Wasser zu verwenden und dieselben nach Zugabe von Mannit-Bouillon und Neutralrot in 7—10 Gärröhrchen von 15—20 ccm Inhalt zu füllen.

Die hier beschriebene Modifikation der Eijkmanschen Methode bietet den Vorteil, dafs mit Hilfe derselben in 24 Stunden die Anwesenheit des Bacterium coli im Wasser und vier charakteristische Eigenschaften desselben und zwar nachgewiesen werden können:

1. die Fähigkeit bei 46° zu wachsen,
2. » » » Gas zu bilden } aus Mannit
3. » » » Säuren zu bilden } aus Mannit
4. » » » Neutralrot zu reduzieren.

Fehlt eine oder die andere von diesen Reaktionen, dann handelt es sich um das **echte** Bacterium coli ganz gewifs **nicht.**

Mit Hilfe dieser modifizierten Methode ist es also möglich solche Fälle auszuschalten, in welchen das geprüfte Wasser einen bei 46° Gas bildenden Mikroben enthält, welcher aber eine oder die andere von den übrigen genannten Reaktionen nicht zeigt und folglich kein echtes Bacterium coli ist, was jedenfalls als eine wesentliche Verbesserung der Eijkmanschen Methode aufzufassen ist.

Meine Modifikation steht, wie ich mich überzeugt habe, was die Leistungsfähigkeit und Empfindlichkeit anbelangt, mit der Eijkmanschen auf der gleichen Stufe, und könnte ich diesbezüglich nur das wiederholen, was ich darüber oben erwähnt habe.

Zum Schlufs gestatte ich mir, Herrn Prof. Dr. G. Kabrhel für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein Interesse für ihren Fortgang meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Kabrhel, Monatsschrift für öffentliche Gesundheitspflege 1898. Nr. 4. etr. 89.
2. Kaiser, Archiv f. Hygiene, Bd. LII, S. 121.
3. Christian, Archiv f. Hygiene, Bd. LIV, S. 386.
4. Eijkman, Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. XXXVII, S. 742.
5. Neumann, Archiv f. Hygiene, Bd. LIX, S. 174.
6. Parietti, Riv. d'igiene e sanità publica. 1890 zitiert nach Meusburger und Rambousek. Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. XXXII, S. 476.
7. Levy und Bruns, Archiv f. Hygiene, Bd. XXXVI, S. 178
8. Lignier, Compt. rend. de la soc. de biolog. 1894, S. 200. Zitiert nach Kaiser. (2)
9. Rothberger, Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. XXIV, S. 513.

Überempfindlichkeitserscheinungen nach Hefeinjektion.

Von

Dr. **Oskar Axamit.**

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. F. Hueppe.)

Mit Tafel I.

In letzter Zeit mehren sich Arbeiten, die sich mit der Frage der Überempfindlichkeit, die jedenfalls zu den interessantesten Erscheinungen zählt, beschäftigen. Der genannte paradoxe Körperzustand ist sowohl theoretisch als praktisch von eminenter Bedeutung. Unter dem Worte »passive Immunität« stellen wir uns den Zustand verminderter Empfindlichkeit (Unterempfindlichkeit) gegen die die Krankheit verursachenden Infektionsstoffe vor, den wir künstlich durch Injektionen geeigneten derartiger Stoffe in steigenden Dosen an Tieren hervorrufen können. Falls jedoch das schon immunisierte Tier plötzlich nach einer Dosis zugrunde geht, die der normale, nicht immunisierte tierische Organismus folgenlos verträgt, haben wir das Gegenteil dessen, was wir erreichen wollten, einen Zustand erhöhter Empfindlichkeit — Überempfindlichkeit — erzielt. Und doch geht beides — die Unter- und die Überempfindlichkeit — Hand in Hand, wie es vorauf v. Pirguet wieder hinwies bei der Vakzination.

»Der vor kurzer Zeit vorgeimpfte Organismus erscheint gegenüber der Erstimpfung überempfindlich, denn er reagiert viel schneller auf die Infektion, und gleichzeitig ist er geschützt,

denn bei ihm erreicht der vakzinale nur eine geringfügige lokale Ausdehnung, alle Allgemeinerscheinungen bleiben ihm erspart.«

Aber auch praktisch kann der obenerwähnte Zustand von grofser Bedeutung sein; denn nach einer Infektion, die unter im ganzen unbedeutenden Symptomen verläuft, kann der tierische Organismus einer Reinfektion ausgesetzt sein, welche infolge der bestehenden Überempfindlichkeit verhängnisvoll werden kann.

Vor dem Berichte über die angestellten Versuche möge in einem kurzen Überblicke die wesentliche Literatur des Gegenstandes wieder gegeben werden.

Die bisherigen Ermittelungen beziehen sich teils auf die Wirkung von gelösten Substanzen, teils auf die von ungelösten, geformten Stoffen. Erstere können wieder von vornherein schon für normale Tiere giftig sein, oder sie wirken erst im überempfindlichen Zustande als heftige Gifte, während sie ohne diesem mehr minder gut vertragen werden.

Zur ersten Gruppe gehören namentlich die Versuche Richets (1), der fand, dafs nach der Injektion von 0,2—0,18 g Aktiniengift pro 1 kg Körpergewicht Hunde nach 10 Stunden zugrunde gingen. Injizierte er jedoch 0,1 g pro 1 kg Körpergewicht und nach 22 Tagen dieselbe Dosis, so starben die Tiere binnen 25 Minuten. Richet legt dieser Überempfindlichkeit eine grofse Bedeutung bei und nennt den Zustand Anaphylaxis.

Behring beobachtete, dafs hoch gegen Diphtherie immunisierte Pferde nach einer relativ unbedeutenden Toxindosis plötzlich unter schweren Vergiftungssymptomen starben.

Diese »paradoxe Reaktion« haben Behring und Kitashima (2) eingehender studiert, indem sie wiederholt sehr geringe Dosen von Tetanustoxin injizierten (etwa $\frac{1}{400\,000}$ der tödlichen Dosis). Es stellte sich heraus, dafs die Tiere dann starben, obwohl die Gesamtmenge des injizierten Giftes kaum $\frac{1}{400}$ der sonst tödlichen Dosis erreichte.

Zu ähnlichen Resultaten ist auch Knorr (3) gelangt.

Ferner beobachtete Kretz(4), dafs gegen Tetanus immunisierte Pferde einer anscheinend unschädlichen Dosis eines Gemisches von Toxin mit Antitoxin erliegen können. Diese paradoxe Reaktion wäre eine einseitige Giftbindung an die empfindlichen Zellen, welche durch Rezeptorenvermehrung für das Gift avider geworden sind, eine Giftbindung, gegen deren deletäre Folgen die freien Rezeptoren im Serum natürlich nicht schützen können, da ihre giftbindende Wirkung als zu wenig avid nicht zur Geltung kommt.

Während es sich bei diesen Versuchen um die Anwendung an sich hochgradig giftiger Stoffe handelte, bemerkte man auch Erscheinungen von Überempfindlichkeit nach Einspritzung von Flüssigkeiten, die an sich relativ unschädlich sind und erst nach wiederholter Einführung in den Organismus die verderblichsten Wirkungen entfalten. Eingehende Studien darüber verdanken wir den Arbeiten von Pirguet und Schick (5).

Diese beobachteten, dafs bei Rindern einige Tage nach der Injektion von fremdem Blutserum lokale (Erytheme, Oedeme) und allgemeine Symptome einer Erkrankung auftraten. Den Zeitraum von der Injektion des Serums bis zum Eintreten der Serumkrankheit bezeichneten sie als Inkubation. Wurde während dieser eine zweite Injektion vorgenommen, so erfolgte keine besondere Reaktion. Wurde hingegen erst längere Zeit nach der Erstinjektion eine neuerliche Serumeinspritzung gemacht, so folgten die Erscheinungen der Serumkrankheit fast ohne jede Inkubationszeit.

Diese sofortige Reaktion erreicht zwischen der 3—6ten Woche ihr Maximum, nimmt nach 4 Monaten ab und verschwindet etwa im 9ten Monate. Doch bleibt auch dann noch der Organismus jahrelang im Zustande einer gewissen Überempfindlichkeit, denn neuerliche Injektionen des betreffenden Serums können die obenerwähnte Reaktion in einer kürzeren Inkubationszeit sls früher hervorrufen.

Diesen interessanten Zustand suchen die erwähnten Autoren so zu erklären, dafs das Serum zwar für den Organismus relativ

unschädlich ist, jedoch eine Produktion von Antikörpern verursacht, die das Antigen in eine giftige Modifikation umbilden, welche dann dadurch die Krankheit hervorruft.

Verbleiben aber die erwähnten Antikörper bis zur Zeit der Zweitinfektion im Organismus, so wandeln dieselben das neue Antigen sofort in die hypothetische schädliche Modifikation um, und es tritt Erkrankung, eventuell der Tod ein. Pirguet schlägt die Einführung des Wortes »Allergie« statt »Überempfindlichkeit« vor, das überempfindliche Tier wird »allergisch«, und statt des Wortes »Antigen« will Pirguet »Allergen« eingeführt wissen.

Ziemlich gleichzeitig hat Arthus(6) Überempfindlichkeit bei Kaninchen durch Reinjektion von Pferdeserum beschrieben.

In der letzten Zeit haben Rosenau und Anderson (7) die Reihe der Forschungen durch Angaben von grofser Überempfindlichkeit bei Meerschweinchen gegen Pferdeserum vermehrt. Sie zeigten weiter, dafs Meerschweinchen durch zehnmalige tägliche Injektion von Pferdeserum gegen spätere Reinfektion immun werden können.

Einen Übergang zwischen der Überempfindlichkeit, die nach Injektion gelöster Substanzen eintritt, zu jener, welche auf die Einführung geformter Elemente zustande kommt, bildet die Überempfindlichkeit gegen Endotoxine, die A. Wolff (8) zum Gegenstande experimenteller Studien und theoretischer Erwägungen gemacht hat. Wolff fand, dafs nach Injektion fremder Zellarten, besonders Spermatozoen, ausgesprochene Überempfindlichkeit eintrat. Da diese ungefähr Hand in Hand geht mit der Ausbildung spezifischer Zytolysine, so liegt es nahe, einen ursächlichen Zusammenhang beider Erscheinungen anzunehmen. Im Gegensatze zu von Pirguet und Schick glaubt Wolff nicht so sehr, dafs der gebildete Antikörper (das Zytolysin) das Antigen (die Zelle) erst giftig macht; er erleichtert nur deren Resorption durch die Auflösung, die er herbeiführt und veranlafst so Vergiftungserscheinungen. In der Folge hat Wolff seine Anschauung auch auf gelöste Eiweifskörper ausgedehnt und in mehrfachen Veröffentlichungen auf die Versuche von v. Pirguet und Schick

angewendet. Auch für Überempfindlichkeit nach Bakterieninjektion gibt die Auffassung Wolffs eine Erklärung.

Was das Studium der Überempfindlichkeit, hervorgerufen durch spezifische Mikroorganismen betrifft, so sind zuerst die Arbeiten über die Experimente mit Mycobacterium tuberc. anzuführen. Schon Koch hat darauf aufmerksam gemacht, dafs die Infektion eines bereits tuberkulösen Meerschweinchens mit tuberkulösem Material einen anderen Verlauf nimmt als die eines noch nicht geimpften.

Courmont (9) bereitete sich Filtrate junger Tuberkelbazillenkulturen, mit denen er dann Meerschweinchen und Kaninchen impfte — gestützt auf die Ansicht Arloings, dafs Tuberkelbazillen und andere pathogene Mikroorganismen gewisse Stoffe ausscheiden, die den tierischen Organismus derart beeinflussen, dafs derselbe eine Zweitinfektion mit derselben Art von Mikroben schwer verträgt.

Die von Courmont geimpften Kaninchen und Meerschweinchen blieben ohne Reaktion am Leben, infizirte er aber dieselben nach 20 Tagen mit tuberkulösem Material eines Meerschweinchens, so starben die Tiere, und zwar Meerschweinchen nach 15, Kaninchen nach 23 Stunden. Die Erklärung dieser Tatsache stützt der erwähnte Autor auf die Ausschaltungstheorie, dafs nämlich gewisse Schutzstoffe durch Injektion von bazillären Produkten ausgeschaltet werden.

Strauss und Gamaleia(10) richteten ihre Experimente so ein, dafs sie getötete Tuberkelbazillen Tieren injizierten, ohne Reaktion zu bekommen; nach einer Reinjektion sind diese Tiere akut zugrunde gegangen. Ähnliche Experimente stellten Babes und Proca (11) an.

Von grofser Wichtigkeit sind die Arbeiten Detre-Deutschs(12). Derselbe injizierte tuberkulösen Meerschweinchen kleine Bazillenmengen subkutan und fand lokale Veränderungen, die sich durch ein Ödem manifestierten, und allgemeine, indem die behandelten Tiere längere Zeit fieberten. Die Erscheinung ist seiner Meinung nach so zu erklären, dafs die Bakterien Giftstoffe, sogenannte Leukotoxine, produzieren, die beim tuberkulösen

Tiere in genügender Menge vorhanden sind, um die Leukozytose vom Orte der Reinfektion fernzuhalten.

Bail [13], der die Frage der Überempfindlichkeit bei der Tuberkulose eingehend studierte, impfte intraperitoneal eine Reihe von bereits tuberkulösen Meerschweinchen mit neuen Bazillen und fand, dafs dieselben sehr akut, schon nach 4 ½ Stunden, starben. Die Zeit, nach welcher die Reinfektion vorgenommen wurde, wurde verschieden gewählt, der Beginn der Überempfindlichkeit läfst sich jedoch nicht genau bemessen.

Bail bestreitet nicht, dafs bei der Überempfindlichkeit besondere Wirkungen der Körpersäfte, nach Art der Zytolysine z. B., tätig seien. Er erblickt aber in diesen nicht die Hauptursache der Überempfindlichkeit, die vielmehr dadurch zustande kommt, dafs Abwehrvorrichtungen des Organismus, welche bei der ersten Injektion des Antigens dieses unschädlich machen, bei der zweiten in Wegfall gekommen sind. Jetzt kann die dem Antigen von Anfang an eigene Giftigkeit, die durch Schutzmittel des normalen Organismus verdeckt wird, zur vollen Wirkung gelangen, besonders wenn Antikörper, etwa Zytolyne im Sinne A. Wolffs, dessen Resorption erleichtern.

In das Gebiet der Überempfindlichkeit bei Tuberkulose fallen auch die Arbeiten von B. Schick, Löwenstein und Rappaport, Möller, Löwenstein und Ostrowsky.

Die Symptome der Überempfindlichkeit bei Syphilis haben Finger und Landsteiner [14] studiert und fanden, dafs Reinfektion bei Syphilis in allen Stadien eine verkürzte Inkubationszeit zur Folge hat.

Bei tertiärer Syphilis zieht die Reinfektion unmittelbare Reaktion nach sich, die sich durch ein Erythem, Infiltration und Zerfall in der Mitte kenntlich macht.

Die Immunität ist demzufolge nur eine relative. Das wird auch durch die Erfahrung an der Klinik bestätigt; es findet nämlich innerhalb der ersten bis zweiten Inkubationsperiode Autoinokulation von dem Primäraffekte oder von fremdem Virus statt, die sich durch eine verkürzte Inkubationszeit manifestiert.

Mit der Überempfindlichkeit bei Diphtherie hat sich Rist ([15]) beschäftigt.

Die Frage der Überempfindlichkeit bei Actinomyces asteroïdes Eppinger hat Nakayama([16]) studiert; der fand, dafs Meerschweinchen, die im Intervalle von 6—7 Tagen mit 3 Agarkulturen + 3,5—5 ccm NaCl-Lösung geimpft wurden, nach 5 bis 57 Stunden (je nach den Intervallen zwischen der Erst- und Zweitinfektion) zugrunde gehen. Auf Einzelheiten der Arbeit wird noch später eingegangen, hier sei nur erwähnt, dafs der Autor dieses Phänomen durch ein Agens erklärt, »das, ohne schon in der künstlichen Kultur vorhanden zu sein, erst im Tierkörper selbst entsteht. Dabei kann entweder an eine Art Sekretionsprodukt der Pilze gedacht werden, oder an eine Modifikation ihrer Substanz, für deren Entstehung aber die Annahme besonderer Reaktionsprodukte des Organismus kein Erfordernis darstellt.«

»Dieses Agens müfste folgende Eigenschaften besitzen:

1. Es vermag an und für sich den Tierkörper nicht zu schädigen.
2. Seine Wirkung ist nicht von unbegrenzter Dauer, sondern erreicht, von einem indifferenten Nullpunkte ausgehend, eine gewisse Höhe, von der ein allmähliches Absinken erfolgt.
3. Es mufs die Tätigkeit besitzen, den vorher zwar nicht unschädlichen, aber doch nicht zu tödlicher Wirkung befähigten Aktinomycespilz für den Organismus giftig zu machen.
4. Die Schädigung der Abwehrvorrichtungen ist nur bis zu einem gewissen Grade spezifisch.

Diese Forderungen werden sämtlich erfüllt, wenn man auch für den Aktinomyces die Bildung von Agressinen im Tiere annimmt.«

Der erwähnte Autor steht mit seiner Erklärung demnach zu der Professor Bails am nächsten.

Die kurze Übersicht, welche auf Vollständigkeit der anzuführenden Literatur keinen Anspruch macht, zeigt deutlich, dafs

die Überempfindlichkeit, in der man lange Zeit nur ein interessantes, schwer zu erklärendes Phänomen sah, tatsächlich eine sehr weite Verbreitung besitzt. Es ist unverkennbar, dafs sie zu den grofsen Problemen der bakteriologischen Forschung, der Erklärung der Infektion und der Immunität in Beziehung steht, was durch die Pirgusche Bezeichnung »Allergie« sehr glücklich zum Ausdruck kommt. Es ist weiter sehr wahrscheinlich, dafs die Überempfindlichkeit, obwohl sie durch anscheinend recht verschiedene Dinge hervorgerufen wird und dementsprechend auch verschiedene Formen zeigt, sich auf ein einheitliches Prinzip der Erklärung zurückführen lassen wird. Vorläufig allerdings gehen die Erklärungsversuche nach verschiedenen Richtungen auseinander, wohl deshalb, weil der gesamte Komplex der Beobachtungen noch schwer von einem einzigen Gesichtspunkte aus aufzufassen ist.

Unter solchen Umständen ist es vor allem notwendig, das Material zu vermehren und Fälle, wo sich Überempfindlichkeit feststellen läfst, genau zu studieren. Eine möglichst vollständige Darstellung der Versuchsergebnisse soll Anhaltspunkte für die Beurteilung der gewonnenen Resultate ergeben.

Angeregt durch Herrn Prof. Bail habe ich die Verhältnisse einer durch Blatomyzeten entstandenen Überempfindlichkeit bei Meerschweinchen und Kaninchen studiert.

Zu diesem Zwecke wurden zuerst aus einem Falle menschlicher Hautmykosis gezüchtete Sprofspilze gewählt, die nur geringe alkoholische Gärung hervorrufen und nach ihrer sonstigen Form und Weise als eine Torulaart bezeichnet werden müssen.

Die einzelnen Zellen zeigen bald eine ovale bis kugelförmige Form, bald wachsen sie zu ansehnlichen Fäden aus. Die jungen Zellen lassen ein einfach konturiertes, glänzendes, kernloses Protoplasma erkennen. Später bekommen dieselben eine Membran, und es gelingt zuweilen, in frischen Präparaten Kerne zu erkennen. Dieselben wurden durch Färbung nach Möller deutlich dargestellt. Die Vermehrung findet durch Sprossung statt. In Bierwürze tritt bei 37° C eine schwache Gärung ein, deren Produkte

Alkohol und CO_2 sind. Die Blastomyzeten vermehren sich dabei nur einige Tage hindurch, und die Gärung sowie die Vermehrung ist bald zu Ende. Dieselben bevorzugen sauere oder zuckerhaltige Nährböden und wachsen bei Zimmertemperatur besser als bei Bruttemperatur, obwohl sie bei der letztgenannten auch ganz gut gedeihen. Auf Agarplatten bilden sie undurchsichtige, dicke Kolonien, deren Randzone aus sichtbaren, runden Kugeln besteht und schon bei schwacher Vergröfserung Unmassen von Hefezellen, aus denen sie zusammengesetzt sind, erkennen lassen. Die Agarstrichkulturen zeigen ein üppiges Wachstum und bilden einen dicken, weifsen, saftigen Belag. Das Kondenswasser bleibt klar, und es bildet sich ein weifser Bodensatz. Im Würzgelatinestiche wachsen sie in nagelförmiger Gestalt, wobei der Stich fadenförmig, gekörnt, die Auflage weifs und erhaben ist und bis gegen den Glasrand vordringt Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Die eben beschriebenen Blastomyzeten scheinen für Meerschweinchen und Kaninchen nicht pathogen zu sein.

Zuerst wurden Vorversuche angestellt, die später noch erwähnt werden sollen, und aus denen sich ergab, dafs die Meerschweinchen 2—4 aufgeschwemmte Agarkulturen intraperitoneal, ohne Symptone einer Erkrankung zu zeigen, ertragen. Die kleinste zum Hervorrufen des Zustandes der Überempfindlichkeit genügende Menge wurde mit 1 Kultur, die Intervalle zwischen der Erst- und Zweitinfektion mit 6 Tagen bestimmt.

Was die Technik der Injektionen anbelangt, wurde eine Reihe von Tieren mit gewaschenen, lebendigen Blastomyzeten (1 Agarkultur + 2 ccm NaCl-Lösung) intraperitoneal geimpft, bei einer anderen Reihe von Meerschweinchen wurden durch Azeton abgetötete Blastomyzeten benutzt; dies geschah so, dafs eine gewaschene, abzentrifugierte Agarkultur eine Stunde lang mit Azeton behandelt wurde. Dann wurden die Blastomyzeten so lange gewaschen, bis der Azetongeruch vollkommen verschwunden war. Die dann abzentrifugierten, abgetöteten Hefezellen wurden in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und intraperitoneal injiziert.

Von Stunde zu Stunde wurde das in der Bauchhöhle entstandene Exsudat mittes einer Kapillare entnommen und zuerst im hängenden Tropfen, dann in gefärbten Präparaten beobachtet. Die Resultate dieser Kapillarentnahme sind in den nachstehenden Tabellen ausgeführt.

Tabelle I.

Nr.	Erst-infektion	Verlauf	Zweit-infektion	Verlauf	Sektionsbefund und Bemerkungen
1. 325 g	1 Agarkult. + 2 ccm Na Cl-lösung	Das Tier zeigt unmittelbar nach der Injektion eine starke peritoneale Reizung, erholt sich jedoch nach 6 Stdn. und bleibt am Leben. Kapillarentnahmen 10 Min. nach der Injektion: Massenhafte Blastom. öfters i. Sprofsverbänd. Fast keine Leukozyten. Nach 1 Stunde: Blastom. in grofser Zahl vorhanden, teilw. Häufchen bildend. Leukozyt. spärlich, desquamierte Epithelien. Nach 2 Stunden: Zahlreiche polynuklin. Leukozyten, die mehrere eingeschloss. Blastom. enthalten. Aufserdem findet man zahlreich. Leukozyten ohne Phagozytose. Freie Blastom. zahlreich. Nach 3 Stunden: Starke Leuko- u. Phagozytose (Mikrophagen) Freie Blastom. vermindert. Nach 4 Stunden: Leuko- u. Phagozytose. Blastom. einzeln zu sehen. Nach 5 Stunden: Leuko u. Phagozytose noch starker wie vorher, namentlich polynukl. Leukozyten sind massenhaft vorhanden.	1 Agarkult. + 2 ccm Na Cl-lösung	Das Tier wird bald sehr krank, stirbt i. d. Nacht. Kapillarentnahme direkt nach der Injektion: Reine Kultur v. Blastom., teilw. in Klumpen. Spärl. Leukozyt. Nach 1 Std.: Zahlr. Leukozyt., die teilw. Phagozytose zeigen. Noch viele Blastomyz. zu sehen, namentlich die fadenbildenden. Nach 3 Stdn.: Massenhafte Leukozyten, sehr starke Phagozyt., fast keine Blastomyzeten. Nach 5 Stdn.: Reiner Eiter. Phagozytos spärlich.	In d. Bauchhöhle befindet sich ein trübes, gelblich. Exsudat, welches einzelne mono- u. polynukleäre Leukozyten und viele Blastomyz. zeigt. Starke fibr. Verwachsung d. Baucheingeweide untereinander u. mit der Bauchwand. Das Omentum verdickt und zusammengeschrumpft. An der Leber u. Peritoneum parietale u. am Omentum befind. sich dicke Eitermassen, die aus polynukleär. Leukoz., welche hier u. da noch Phagozyt. zeigen, und aus freien Blastomyzet. bestehen. Degeneratio parench. hepatis et renum. Milz etwas vergröfsert. Aus d. Exsudat u. Eitermassen wachsen reine Blastomyz. in angelegten Kulturen. Das Blut steril.

Fortsetzung der Tabelle I.

Nr.	Erst-infektion	Verlauf	Zweit-inf. nach 6 Tagen	Verlauf	Ev. Drittinf. nach 6 Tagen	Verlauf	Sektionsbefund und Bemerkungen.
2. 310 g	Wie 1.	Das Tier zeigt keine auffallend. perit. Reizung, frifst u. ist vollkommen munter. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Massenhafte Blastomyzet. Spärliche Leukozyten Nach 1 Stunde: Die Blastomyz. noch sehr zahlreich, teilweise um einen Leukozyten herumgesammelt. Leukozyten spärlich, keine Phagozyten. Nach 2 Stunden: Freie Blastomyzeten zu finden. Leuko- u. Phagozytose beginnend. Nach 3 Stunden: Blastom. noch immer zu finden Leuko- u. Phagozyt. Nach 4 Stunden: Leuko- und Phagozytose nimmt stark zu, hie und da noch Blastomyzeten. Nach 5 Stunden: Sehr spärl. Blastom.; rein. Eiter Phagozytose noch zu sehen.	Wie 1.	D. Tier zeigt Symptome ein. schwer. Peritonitis, trotzdem erholt sich dasselbe nach 48 Stdn. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Massenhaft Blastomyz Nach 1 Stunde: Mäfsige Zahl v. Leukozyten. Einzelne Mikrophagen mit Blastomyz überfüllt. Blastomyzet einzeln u. in Häufchen zu sehen. Nach 2 Stunden: Massenhafte Leukozyt. Starke Phagozytose Einzelne Blastomyzet. Nach 3 Stunden: Wie oben. Nach 4 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose. Spärliche Blastomyzeten. Nach 6 Stunden: Das Bild wie nach 4 Stunden.	1 Agarkult. + 2 ccm NaCl-lösung	Das Tier stirbt n. 22 Std. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Viele Blastom. Einzel. desquam. Epithelien. Leukozyt. sehr spärlich. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Blastomyz. namentlich die langen mono- u. polynukleären Leukozyten. Phagozyt. Nach 2 Stunden: Die Zahl der Blastom. hat stark abgenommen. Leukozytose sehr stark, etwa d. Hälfte d. Zellen zeigt Phagozytose. Nach 3 Stunden: Blastomyzeten ziemlich verschwunden. Leuko- u. Phagozytose nimmt noch immer zu. Nach 4 Stunden: Dasselbe Bild. Nach 5 Stunden: Keine Blastom. zu find. Reiner Eiter. Phagozyt. noch bemerkbar.	In der Bauchhöhle etwa 3 ccm flüssiges, gelbliches Exsudat mit zahlreichen Flocken. An Omentum u. Darmschlingen dick. Eitermassen. Mehrere bis hanfkorngrofse, teils fibröse teils in der Mitte erweichte Knötchen in der Verwachsungszone an verschieden. Stellen des Peritoneums. Inguinaldrüsen sehr vergröfsert, einer Geschwulst ähnlich, die beim Durchschneiden eine erweichte Mittelpartie aufwies. Dieselben wurden nach gewohnten Regeln d. Technik fixiert, gehärtet und geschnitten. Über den histolog. Befund wird später die Rede sein. Parench. Degenerat. der Niere und Leber. Milz stark vergröfsert. Aus d. Exsudate u. Eitermassen wurden Kulturen angelegt, die typisch. Blastomyzeten zeigen. Das Blut steril.

Fortsetzung der Tabelle I.

Nr	Erst-infektion	Verlauf	Zweit-infektion nach 6 Tagen	Verlauf	Sektionsbefund und Bemerkungen
3.	Wie 1.	Das Tier scheint nicht besonders krank zu sein. Nach 24 Stunden vollkommen munter. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Massenhafte Blastomyzeten. Nach 1 Stunde: Einzelne Leukozyten. Zahl der Blastomyz. kaum abgenommen. Nach 2 Stunden: Leuko- und Phagozytose nimmt zu. Zahl der Blastomyzeten abgenommen. Nach 3 Stunden: Dasselbe Bild. Nach 4 Stunden: Leukozyten sehr zahlreich, fast alle zeigen Phagozytose. Nach 6 Stunden: Leuko- und Phagozytose, fast keine Blastomyzeten mehr.	Wie 1.	Das Tier ist deutlich krank und stirbt in der Nacht. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Massenhafte Blastomyzeten, teilweise in Häufchen, einzelne Leukozyten. Nach 1 Stunde: Noch viele freie Blastomyzeten; polynukleäre Leukozyten, zahlreich, z. Teil mit Blastomyceten vollgestopft. Nach 2 Stunden: Die Zahl der Blastom. geringer. Leuko- und Phagozytose. Nach 3 Stunden: Dasselbe Bild. Nach 4 Stunden: Blastomyzeten nicht mehr zu finden. Leuko- und Phagozytose sehr stark. Nach 5 Stunden: Keine Blastomyz. Reiner Eiter. Phagozytose nimmt deutlich ab.	In der Bauchhöhle flüssiges, gelbliches, dünnes Exsudat. Mikroskopisch zeigt dasselbe einzelne Lymphozyten und Leukozyten. Auf der Leber, Milz, Omentum und parietalem Peritoneum befinden sich Eitermassen, die aus Leukozyten, Makrophagen mit Blastomyzeten und Zellresten bestehen, aufserdem findet man auch freie Blastomyzeten in denselben. Einige kleine, alte, narbig-fibröse Stränge am Grofsnetz, Verwachsungen der Baucheingeweide untereinander. Parench. Degeneration der Leber und Niere, Tumor lienis. Aus den Eitermassen, dem Exsudate und der Milz wachsen wieder Blastomyzeten am Agar. Das Blut steril.

6.	Wie 1.	Das Tier ist deutlich krank, erholt sich nach 24 Stunden. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Blastom. einzeln u. in Klumpen massenhaft vorhanden. Hier u. da ein Leukozyt. Nach 1 Stunde: Noch immer massenhafte Blastomyzeten. Leukozyten mit Phagozytose einzeln zu sehen Nach 2 Stunden: Blastomyzeten zahlreich. Leuko- und Phagozytose. Nach 3 Stunden: Noch immer viele freie Blastomyzeten. Leukozytose stark ausgeprägt, viele Mikrophagen, beladen mit Blastomyzeten. Nach 4 Stunden: Desgl. Nach 5 Stunden: Einzelne Blastom., starke Leuko- und Phagozytose. Nach 6 Stunden: Nur noch 2 Blastom.-Zellen gefunden. Leuko- u. Phagozytose reichlich. Nach 7 Stunden: Leuko u. Phagozytose. Unbestimmbare Körperchen, vielleicht Blastomyzetengranula. Nach 8 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose, Makrophagen vereinzelt. Nach 9 Stunden: Rein. Eiter. Hier u. da Phagozyt.	Wie 1.	Das Tier 4 Stunden nach der Injektion schwer krank, stirbt in der Nacht. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Das Bild beherrscht von freien, in Klumpen und einzeln vorkommenden Blastomyzeten. Sehr spärliche Leukozyten. Nach 1 Stunde: Blastom. sehr zahlreich. Die Zahl der Leukozyten scheint deutlich vermehrt zu sein. Phagozytose kommt vereinzelt vor. Nach 2 Stunden: Blastomzyten spärlicher. Starke Leuko- und Phagozytose. Nach 3 Stunden: Desgl. Nach 4 Stunden: Keine freien Blastomyzeten zu finden. Leuko- u. Phagozytose. Nach 5 Stunden: Desgl. Nach 6 Stunden: Desgl. Nach 7 Stunden: Massenhafte Leukozyten, Phagozytose nimmt ab, einzelne Mikrophagen befinden sich i. beginnender Entartung, ihr Plasma sieht wie verwischt aus, aus demselben scheinen freie Blastom. in Häufchen auszuwachsen. Einz. freien Blastom. wieder leicht zu finden. Nach 9 Stunden: Reiner Eiter, keine Phagozytose. Einzelne freien Blastomyzeten.	In der Bauchhöhle befinden sich etwa 5 ccm flüssiges Exsudat, welches mikroskopisch einzelne Leukozyten und hier und da freie Blastomyzeten zeigt. Die fibrösen Verwachsungen d. Baucheingeweide untereinander und mit der Bauchwand fehlen diesmal. An der Leber und an anderen Organen befinden sich dicke Eitermassen, die aus Leukozyten (polynukleären), aus einzelnen Makrophagen und zahlreichen freien Blastomyzeten bestehen. Parench. Degeneration leichten Grades. Milz mäfsig vergröfsert. Aus dem Exsudat, Eitermassen und Milz wachsen wieder reine Kulturen von Blastomyzeten. Das Blut steril.

Diese Tabelle gibt den Verlauf der Erst- und Zweitinfektion bei Anwendung lebender Hefen in Ausführlichkeit wieder. Dafs das Tier Nr. 2 die Zweitinfektion, wenn auch unter schwerer Krankheit schliefslich überstand, stellt bei dieser Torulahefe eine seltene Ausnahme dar, während es bei der später zu erwähnenden Logoshefe die Regel ist.

Es sollte weiter untersucht werden, ob die Exsudatflüssigkeit, welche sich in der Bauchhöhle überempfindlich gewordener Tiere mehr minder reichlich findet, eine Änderung des Verlaufes der Erst- und der Zweitinfektion herbeiführen könne. Sie wurde zu diesem Zwecke bis zu völliger Klarheit zentrifugiert und so frisch, ohne jeden Sterilisationsversuch, verwendet. Die Resultate veranschaulicht die Tabelle II, S. 30 u. 31.

Die Versuche verliefen vollständig klar. Weder im Endergebnis, noch im Infektionsverlaufe trat unter dem Einflusse der Peritonealflüssigkeit überempfindlich gewordener Tiere eine wesentliche Änderung auf; auch das Ergebnis der Zweitinfektion war wie bei einem gewöhnlichen überempfindlichen Meerschweinchen. Es läfst sich somit, was je nach der Unfähigkeit der Hefe im Tiere zu wachsen von vornherein zu erwarten war, keine aggressive Wirkung des Exsudates nachweisen. Ebensowenig enthielt es etwa Antikörper, welche die Hefe besonders giftig machen könnten, noch auch Gifte selbst.

Von gröfstem Interesse sind die Versuche mit abgetöteter Hefe, Tabelle III, S. 32—34.

Durch Abtötung der Hefen mit Azeton geht somit die überempfindlich machende Wirkung derselben so vollständig verloren, dafs selbst eine viermalige Infektion der sonst sicher wirksamen Hefemenge weder den Tod noch irgendeine besondere Krankheit der Versuchstiere herbeizuführen vermag.

Es war noch von hohem Interesse zu ermitteln, wie sich Tiere verhalten, welche zum ersten Male mit lebenden, zum zweiten Male mit toten Blastomyzeten und umgekehrt geimpft werden.

Zu diesem Zwecke wurden einer Reihe von Meerschweinchen zum ersten Male je eine lebende Kultur + 2 ccm Na·LClösung

intraperitoneal injiziert; nach 6 Tagen wurden sie mit abgetöteten Blastomyzeten in der gleichen Menge geimpft. Eine zweite Reihe von Meerschweinchen erhielt in umgekehrter Reihenfolge eine Erstinjektion von abgetöteten, die Zweitinjektion nach 6 Tagen von lebenden Blastomyzeten.

Die Kapillarentnahmen unterblieben, um sekundäre Infektion und das durch die Entnahmen stattfindende Irritieren der Tiere zu vermeiden.

Keines von den geimpften Tieren zeigte auffallende Symptome einer Erkrankung, aufser einer kleinen Gewichtsabnahme, die am zweiten bis dritten Tage nach der Injektion festgestellt wurde und 10—20 g betrug. Vom vierten Tage an nahmen alle Tiere an Gewicht wieder zu. Von diesen, vielleicht wichtigsten Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen wird am Schlusse der Arbeit noch die Rede sein.

Vergleicht man die Tabellen, so wird ersichtlich, dafs die Leukozytose bei den zum ersten Male injizierten Tieren etwa 2 Stunden nach der Injektion beginnt. Nach dieser Zeit zeigen viele bis ziemlich alle Leukozyten Phagozytose. Bei den zweitinfizierten Tieren kommt die Leukozytose etwas früher zum Vorschein, jedenfalls deshalb, weil sich die Bauchhöhle noch von der ersten Injektion her im Reizzustande befindet. Ob die Blastomyzeten im lebendigen Zustande oder durch Azeton abgetötet benützt wurden, scheint keinen Einflufs auf die obenerwähnten Verhältnisse zu haben.

Die Leukozyten (Mikrophagen) scheinen jedoch eine geringe Rolle bei Vernichtung der Blastomyzeten zu spielen, da dieselben nach 24 Stunden im Exsudate wieder zu finden sind (nach der Erstinfektion), obwohl sie 6—8 Stunden nach der Injektion verschwunden sind. Aufserdem befinden sich die Blastomyzeten in den Makrophagen, ja hie und da sieht man Mikrophagen im Innern der Makrophagen (Kytophagozytose). Nach 48 Stunden etwa nehmen die Mikrophagen, die nach 24 Stunden noch zahlreich zu finden sind, ab, und man sieht viele Makrophagen,

Fortsetzung des Textes S. 34.

Tabelle II.

Nr.	Erst-infektion	Verlauf	Zweit-infektion nach 6 Tagen	Verlauf	Sektionsbefund und Bemerkungen
5. 205 g	Das flüssige Exsudat von Nr. 2 wurde zentrifugiert, die klare Flüssigkeit mit einer Kultur intraperitoneal injiziert.	Kein besonderer Unterschied gegenüber einem gewöhnlichen Erstinjizierten. Die Entnahmen zeigen ebenfalls keine Unterschiede, nur die Leukozytose kommt etwas später zustande und die Phagozytose ist bis nach 20 Stunden sichtbar.	1 Agarkultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Das Tier ist schw. krank, stirbt i. d. Nacht. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Rein. Blastomyzetenkult., ein. Leukozyt. Nach 1 Stunde: Blastom. massenhaft vorhanden. Leukozytose. Zweimal Phagozytose gefunden. Nach 2 Stunden: Die Zahl der Blastom. hat abgenommen. Leuko- und Phagozytose stark. Nach 3 Stunden: Ähnliches Bild, nur die Zahl der Blastomyzeten nimmt ab. Nach 4 Stunden: Desgl. Nach 5 Stunden: Freie Blastom. nicht mehr zu finden. Starke Leuko- und Phagozytose. Ovale, granulaähnliche Körperchen, vielleicht Blastomyzetenreste. Nach 6 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose nimmt ab. Keine Blastomyzeten. Nach 7 Stunden: Desgl. Nach 8 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose sehr selten zu finden, einzelne Mikrophagen sehen wie verwischt aus. Aus denselben scheinen die Blastomyzeten herauszuwachsen. Einzelne freie Blastomyzeten. Nach 9 Stunden: Polynukl. Leukozyt. massenh. vorhand. Keine Phagozytose. Hier u. da Blastom.	Im wesentlichen kein Unterschied von den vorigen. Nur in dem flüssig. Bauchhöhlenexsud. erscheinen mehr freie Blastomyz. vorzukommen. In den dicken Eitermassen am Omentum, Leber etc. befinden sich poly-, teilweise mononukleare Leukozyten, deren Plasma wie aufgequollen, zerflossen erscheint, und deren Kerne zu voluminösen Klumpen verändert sind. Aus der Peripherie derselb. erscheinen die Blastomyzeten herauszuwachsen. Freie Blastomyz. kommen zahlreich vor. Das Omentum ist mit dem Mesocolon ascendens verwachsen. Diese Verwachsung bildet ein erbsengrofses Knötchen, welches in der Mitte erweicht erscheint. Parenchym. Degeneration der Organe. Tumor lienis. Aus dem Exsudate, Milz und den Eitermassen wurden wieder reine Blastomyzeten gezüchtet. Das Blut steril.

7. 245 g	Bekommt eine 24 Stunden alte Kultur aufgeschwemmt in dem bis zur Klarheit zentrifugierten Bauchhöhlenexsudate von Nr. 5 intraperitoneal.	Das Tier ist schwer krank, bleibt jedoch am Leben. Kapillarentnahmen direkt nach der Injektion: Blastomyzeten massenhaft vorhanden. Leukozyten spärlich. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Blastomyzeten. Leukozyten spärlich. Nach 2 Stunden: Desgl. Nach 3 Stunden: Noch immer eine ansehnliche Zahl von Blastomyzeten. Leukozyten reichlicher. Nach 4 Stunden: Blastomyzeten spärlicher. Leukozyten, Mikrophagen. Nach 5 Stunden: Desgl. Nach 6 Stunden: Leukozytose stark entwickelt, Phagozytose ebenfalls, keine Blastomyzeten. Nach 7 Stunden: Desgl. Nach 8 Stunden: Desgl.	1 Agarkultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	Das Tier ist schwer hinfällig, stirbt im Laufe der Nacht. Kapillarentnahme direkt nach der Injektion: Blastomyzeten, frei und in Klumpen. Nach 1 Stunde: Eine Anzahl von pulynukl. Leukozyten. Zahlreiche Blastomyzeten. Hier und da Phagozytose bemerkbar. Nach 2 Stunden: Blastomyzeten spärlich. Leuko- und Phagozytose stark. Nach 3 Stunden: Keine Blastomyzeten. Leukozyten sehr stark, zahlreiche Mikrophagen, einzelne Makrophagen. Nach 4 Stunden: Desgl. Nach 5 Stunden: Leukozytose sehr stark, einzelne Leukozyten zeigen Veränderungen wie bei Nr. 6. Blastomyzeten scheinen aus ihnen auszuwachsen. Einzelne freie Blastomyzeten wieder zu finden. Nach 7 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose kaum bemerkbar. Blastomyzeten vorhanden. Nach 8 Stunden: Desgl.	Sektionsbefund entspricht im wesentlichen dem von Nr. 6. Keine Verwachsung. zu finden. Die parenchym. Degeneration nicht so auffallend wie bei den früher sezierten Fällen. Milz nicht besonders vergrößert. Aus dem Exsudate der Bauchhöhle, den Eitermassen a. Leber, Omentum etc. wachsen reine Kulturen von Blastomyzeten. Das Blut steril.

Tabelle III.

Nr.	1. Injektion	Verlauf	2. Injektion nach 6 Tagen	Verlauf	3. Injektion nach 6 Tagen	Verlauf	4. Injektion nach 6 Tagen	Verlauf
4	Eine mit Azeton behandelte Kultur + 2 ccm NaCl-lösung	Das Tier scheint nicht auffallend krank z. sein. Frifst nach 8 Std. und nach 24 Std. ist vollkommen munter. Kapillarentnahmen direkt n. d. Injektion: Zahlreiche Blastomyz., die frei u. in Häufchen liegen. Nach 1 Stunde: Massenh. Blastom. Hier u. da ein Leukozyt. Nach 2 Stunden: Leukozyt. zahlreicher, viele von ihnen zeigen Phagozytose. Blastom. noch immer zahlreich.	Eine mit Azeton behandelte Kultur + 2 ccm NaCl-lösung	Das Tier lebt ohne auffällig krank zu sein. Kapillarentnahmen direkt n. d. Injektion: Blastomyz. massenhaft vorhanden. Einzelne Leukozyten. Nach 1 Stunde: Sehr viele Blastomyz. Leukozytose mäfsig. Phagozytose spärlich. Nach 2 Stunden: Blastom. noch leicht zu finden. Starke Leuko- und Phagozytose.	Eine mit Acetonbehandelte Kultur + 2 ccm NaCl-lösung	Das Tier ist vollkommen munter und frifst. Kapillarentnahmen direkt n. d. Injektion: Massenhafte Blastomyzeten. Nach 1 Stunde: Die Zahl der Blastom. unverändert. Leukozytose schwach. Nach 2 Stunden: Blastomyzet. stark verschwunden. Leukozyt. Hier u. da Phagozyten.	Eine mit Azeton behandelte Kultur + 2 ccm NaCl-lösung	Das Tier ist vollkommen munter und frifst. Kapillarentnahmen direkt n. d. Injektion: Blastomyz. massenhaft vorhanden. Nach 1 Stunde: Zahlr. Blastomyz. Polynukleäre Leukozyten ziemlich reichlich vorhanden. Einzelne Makrozyten. Nach 2 Stunden: Leuko- u. Phagozytose bereits entwickelt. Blastomyzeten einzeln zu finden.

Nach 3 Stunden: Leukozyten zahlr. vorhanden, mehr als die Hälfte v. ihnen zeigen Phagozytose. Blastom. noch zieml. zahlreich.	Nach 3 Stunden: Die Zahl der Blastom. geringer. Leuko- und Phagozytose reichlich.	Nach 3 Stunden: Leuko- u. Phagozytose stark, keine freien Blastomyzeten.	Nach 3 Stunden: Starke Leuko- u. Phagozytose. Blastomyzeten nicht mehr zu finden.
Nach 4 Stunden: Leuko- u. Phagozytose nimmt stark zu. Einzel. Blastom. noch sichtbar.	Nach 4 Stunden: Desgl.	Nach 4 Stunden: Desgl.	Nach 4 Stunden: Das Bild im wesentlichen unverändert.
Nach 5 Stunden: Starke Leuko- u. Phagozytose. Freie Blastom. nicht mehr zu finden.	Nach 5 Stunden: Noch zwei freie Blastomyzetenzellen gefunden. Leuko- u. Phagozytose reichlich.	Nach 5 Stunden: Desgl.	Nach 5 Stunden: Reiner Eiter. Keine Blastomyzeten.
Nach 6 Stunden: Leukozytose wie oben, Phagozytos. schwächer.	Nach 6 Stunden: Leukozyt. unverändert. Phagozytose nimmt ab.	Nach 6 Stunden: Desgl.	Nach 6 Stunden: Desgl.
	Nach 7 Stunden: Desgl.	Nach 7 Stunden: Reiner Eiter, Phagozytose nimmt ab.	Nach 7 Stunden: Desgl.
	Nach 8 Stunden: Desgl.	Nach 8 Stunden: Desgl.	Nach 8 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose kaum bemerkbar. Blastomyz. nicht zu finden.
	Nach 9 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose sehr spärlich		

Fortsetzung der Tabelle III.

Nr.	1. Infektion	Verlauf	2. Infektion nach 6 Tagen	Verlauf
8.	Wie 4.	Das Tier frifst und ist vollkommen munter. Kapillarentnahmen direkt n. d. Injektion: Freie Blastomyzeten. Nach 1 Stunde: Blastom. massenh. vorhanden, einzelne polynukleäre Leukozyten. Nach 2 Stunden: Die Zahl der Leukozyten hat zugenommen, einzelne Phagozyten. Zahlr. Blastomyzeten. Nach 3 Stunden: Leuko- und Phagozytose bereits stark. Blastomyzeten noch immer leicht zu finden. Nach 5 Stunden: Starke Leuko- u. Phagozytose. Keine Blastom. zu sehen. Nach 6 Stunden: Leukozytose stark, Phagozyt scheint langsam abzunehmen. Keine Blastom. zu finden. Nach 7 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose schwächer wie vorher. Keine Blastomyzeten. Nach 8 Stunden: Desgl.	Wie 4.	Das Tier ist vollkommen munter u. frifst. Kapillarentnahmen direkt n. d. Injektion: Reine Blastomyzeten, auch in Klumpen. Nach 1 Stunde: Grofse Zahl von Blastomyz. Leukozyten vereinzelt. Nach 2 Stunden: Starke Leukozytose, Phagozytose hier u. da bemerkbar. Die Zahl der Blastomyzeten hat abgenommen. Nach 3 Stunden: Starke Leuko- und Phagozytose. Blastomyzeten kaum bemerkbar. Nach 4 Stunden: Sehr starke Leuko- u. Phagozytose. Keine Blastomyz. Nach 5 Stunden: Desgl. Nach 6 Stunden: Reiner Eiter. Phagozytose nimmt ab. Keine Blastomyzeten. Nach 7 Stunden: Desgl.

welche zum Teil in den Verdauungsvakuolen verschrumpfte Blastomyzeten enthalten. Drei Tage nach der Injektion findet man zahlreiche Makrophagen, die grobe Granula, wahrscheinlich von Blastomyzeten herrührend enthalten, aufserdem finden sich noch Makrophagen, die verschrumpfte Blastomyzeten in Verdauungs-

vakuolen zeigen. Daneben findet man poly- und mononukleäre Leukozyten von gewöhnlichem Aussehen.

Bei der zweiten Injektion kann man nach 7—8 Stunden zerfallene wie verwischte Mikrophagen, aus denen Blastomyzeten herausfallen, neben freien Blastomyzeten, die wieder zum Vorschein kommen, wahrnehmen.

Obwohl es nicht ganz leicht ist, aus den Einzelbildern, die man bei den Kapillaren-Entnahmen erhält, den ganzen Infektionsverlauf mit Sicherheit zu rekonstruieren, und obwohl es oft mifslich ist, aus blofsem mikroskopischem Befunde Lebensfähigkeit oder Tod der gefundenen Mikroben zu bestimmen, so scheinen doch vorwiegend nur die Makrophagen eine ausgesprochene Fähigkeit zur Zerstörung von Hefen zu besitzen. Die polynukleären Leukozyten zeigen zwar starke, oft stärkste Phagozytose, deren Zweck aber nicht so sehr die direkte Abtötung der Hefe zu sein scheint, als vielmehr ihre Entfernung aus der Bauchhöhle und ihre Ablagerung hauptsächlich am Grofsnetze. In den Eitermassen, die sich dort finden, stellen sich sehr bald Makrophagen und polynukleäre Leukozyten von bedeutender Gröfse ein, denen möglicherweise erst die eigentliche Abtötung der Hefe zufallen könnte. Manche Bilder lassen sich kaum anders deuten. Inwiefern der eben erwähnte Befund des Zerfalls polynukleären Phagozyten, der hauptsächlich bei der zweiten Infektion zu beobachten ist, mit der Überempfindlichkeit zusammenhängen könnte, wage ich nicht zu erörten. Jedenfalls sei darauf aufmerksam gemacht, da jeder derartige Befund ausdrücklich einen Anhaltspunkt zur Erklärung des geänderten Verhaltens des allergischen Organismus abgeben könnte.

Trifft es zu, dafs vorwiegend Makrophagen und ihnen entsprechende Zellen die definitive Abtötung der Hefen besorgen, so wäre eine Parallele gefunden mit der Entdeckung Metschnikoffs, die wichtige Rolle der Makrophagen bei Tuberkulose betrifft und die analoge Beobachtung Nakayamas bei Aktinomykose.

Schattenfroh (17) hat gefunden, dafs weder Blut noch Serum auf die Keimfähigkeit der Hefe einen Einflufs hat, dafs jedoch die gewöhnliche Bierhefe im Tierkörper rasch zugrunde geht, und zwar durch Phagozytose, die er als eine intrazelluläre

Alexinwirkung erklärt. Bei pathogenen Mikroorganismen, z. B. bei Soor, hat der erwähnte Autor gefunden, dafs nur ein frisches Exsudat auf dieselben tödlich einzuwirken imstande ist, obwohl nach Einwirkung von frischem Exsudate auf Soor binnen 24 Stunden noch 65 bis 110 Kolonien auf den Platten gewachsen sind.

Aufserdem kommen ziemlich bei jeder Entnahme in den ersten Stunden nach der Injektion desquammierte Epithelien und Lymphozyten vor.

Die Blastomyzeten, die in den Entnahmen in späteren Stunden oder bei den zweitinfizierten bei der Sektion frei gefunden werden, unterscheiden sich nicht von der kulturell gezüchteten, weder mikroskopisch noch makroskopisch (in Kulturen).

Einige Versuche wurden angestellt, um zu sehen, ob die verwendete Hefe auch bei anderen Tieren, bei Kaninchen, Überempfindlichkeit hervorrufen könne. Eine direkte Pathogenität kommt der genannten Torulaart für Kaninchen nicht zu, da sie bei intraperitonealen wie bei intravenöser Injektion relativ sehr grofse Mengen ohne ersichtlichen Schaden für das Tier vertragen wurde. Leider ist die intravenöse Hefeinjektion an sich für Kaninchen sehr gefährlich, da Klumpenbildung bei Herstellung der Aufschwemmungen kaum zu vermeiden ist und bei Filtration der Suspensionen durch Papier oder Watte ein sehr grofser Teil der Hefen zurückgehalten wird. Eine ganze Anzahl von Kaninchen starb kurze Zeit nach der Injektion an Embolien. Verwendbar erwiesen sich mit einigen Ausnahmen nur gröfsere Kaninchen, bei denen man eine Kultur in mehreren Kubikzentimetern NaCl-Lösung aufgeschwemmt ohne Nachteil injizieren konnte. Diese Kaninchen vertrugen eine Kultur, ohne Symptome einer Erkrankung zu zeigen: die Temperatur stieg nicht, die Tiere waren vollkommen munter, frafsen und nahmen an Gewicht zu. Wurden dieselben in etlichen Tagen getötet, so liefsen sich weder pathologische Veränderungen noch Blastomyzeten in irgendwelchen Organen auffinden.

Injiziert man jedoch den Kaninchen Blastomyzeten intraperitoneal, so werden die Tiere typisch überempfindlich.

Ein Kaninchen (490 g) erhält $^3/_4$ von einer Blastomyzetenagarkultur intraperitoneal. Lebt, nach 6 Tagen erhält es wieder $^3/_4$ von einer Blastomyzetenagarkultur intraperitoneal. Am nächsten Tage nimmt es um 30 g ab und stirbt nach 36 Stunden.

Ein Kaninchen (708 g) erhält eine Blastomyzetenagarkultur intraperitoneal, nimmt am nächsten Tage 12 g, am zweiten 10 g ab, dann nimmt es wieder an Gewicht zu. Nach 6 Tagen wiegt es 780 g und erhält wieder eine Blastomyzetenagarkultur intraperitoneal. Stirbt nach schwerer Erkrankung 18 Stunden nach der Zweitinjektion.

Ein Kaninchen (575 g) bekommt $^1/_4$ von einer Blastomyzetenagarkultur + 1 ccm NaCl-Lösung intravenös, lebt, nimmt am nächsten Tage an Gewicht zu. Nach 6 Tagen wiegt es 680 g, bekommt eine Blastomyzetenagarkultur intraperitoneal und nimmt am nächsten Tage 30 g ab. Lebt, nach 6 Tagen erliegt es einer neuerlichen Injektion einer Kultur in 36 Stunden.

Die Versuche zeigten, dafs auch Kaninchen sich bei wiederholten Injektionen, ähnlich wie Meerschweinchen, überempfindlich erwiesen.

Dafs die Erscheinungen meist nicht ganz so stürmisch sind wie bei Meerschweinchen, kann nicht überraschen. Jedenfalls besteht im Prinzip Übereinstimmung zwischen der Wirkung der Hefe auf beide Tierarten.

Der Sektionsbefund unterscheidet sich im wesentlichen nicht von dem bei den Meerschweinchen, nur die Verwachsungen der Baucheingeweide untereinander und mit der Bauchwand wurden nicht gefunden. Aus dem Exsudate und aus den Auflagerungen des Eiters an der Leber, Milz etc., sowie aus der Milz selbst wurden reine Kulturen gezüchtet, das Blut war steril. Parenchymatöse Degeneration der Leber und Niere leichten Grades und Milztumor waren vorhanden, während in anderen Organen pathologische Veränderungen fehlten.

Auffallend ist, dafs die intravenöse Injektion von Hefe eine deutliche Überempfindlichkeit gegen eine nachträgliche intraperitoneale nicht hervorgerufen hat. Es ist sehr zu bedauern, dafs der weiteren Ausführung ähnlicher Untersuchungen so grofse

technische Schwierigkeiten entgegenstehen, dafs sie erst durch Verwendung eines grofsen Tiermateriales, das zur Zeit meiner Versuche nicht zur Verfügung stand, überwunden werden können. Weitere Untersuchungen müssen über diesen Punkt Klarheit schaffen. Denn es scheint tatsächlich, als ob der typische Befund der Überempfindlichkeit nur bei einer bestimmten Infektionsweise auftrete. So konnte Nakayama durch subkutane Erstinfektion mit Aktinomyzes keine Überempfindlichkeit gegen eine folgende intraperitoneale erzeugen und umgekehrt. Es ist dabei natürlich sofort zuzugeben, dafs subkutane und intraperitoneale Injektion durchaus ungleichwertig sind. Bei ersterer sind die Resorptionsbedingungen des Antigens sehr ungünstig, dafür aber die Möglichkeit der raschen Elimination des Antigens durch Eiterung und Abszefsbildung sehr günstig. Am ehesten liefse sich noch intravenöse und intraperitoneale Impfung kombinieren. Für Aktinomyzes war aber bei der Beschaffenheit der Kulturen an eine intravenöse Injektion überhaupt nicht zu denken, bei Hefe mufste ich die traurigsten Erfahrungen über die Gefahr dieser Infektionsweise machen. Die Frage nach der Gleichwertigkeit der Beibringung des Antigens in bezug auf die Ausbildung der Überempfindlichkeit mufs also vorläufig noch offen bleiben. Hängt diese, wie es bisher den Anschein hat, tatsächlich davon ab, dafs die aufeinanderfolgenden Injektionen immer intraperitoneal gemacht werden müssen, so würde das sehr zugunsten einer Lähmung von Schutzkräften, die diesmal mehr lokaler Natur wären, sprechen, während es mit der Annahme einer wesentlichen Beteiligung von Antikörpern irgendwelcher Art im Widerspruch stände. Natürlich würde sich das nur auf die Überempfindlichkeit gegen geformte Antigene beziehen, da für die gegen gelöste andere Verhältnisse anzunehmen sind.

Zu weiteren Experimenten wurden Kulturen der Hefe »Logos« verwendet, welche Art, als eine wohlbekannte, näherer Beschreibung nicht bedarf. Sie wurde einerseits wegen ihrer leichten Erkenntlichkeit gewählt, anderseits deshalb, weil es erwünscht erschien, an zwei möglichst voneinander abweichenden Blastomyzeten festzustellen, ob das bei der Torula gefundene

Verhalten im Tierkörper den Blastomyzeten überhaupt zukommt. Als ein Vertreter der Schizosaccharomyzeten ist die Logoshefe im System weit genug von Torula getrennt. Tatsächlich zeigte sich im Prinzip Übereinstimmung, im Detail mannigfache Abweichung des Verlaufes der Erst- und Mehrinfektionen. Es dürfte sich daraus wohl der Schlufs ableiten lassen, dafs die Fähigkeit Überempfindlichkeit hervorzurufen, den Blastomyzeten allgemein zukommt, allerdings in verschieden hohem Grade für die einzelnen Hefearten.

Es wurden ausschliefslich Bierwürzekulturen verwendet, die nach abgegossener Bierwürze zweimal gewaschen und dann in einer Aufschwemmung von 2 ccm NaCl-Lösung im lebendigen Zustande oder durch Azeton abgetötet und mit derselben Menge von NaCl-Lösung aufgeschwemmt intraperitoneal injiziert wurden. Die Experimente wurden mit demselben Resultate wiederholt.

Wie die Tabellen, S. 40—43, zeigen, unterscheiden sich die Experimente von den vorangegangenen im wesentlichen nur dadurch, dafs die Tiere erst nach der dritten Injektion zugrunde gegangen sind. Weiter kann auffallen, dafs die Blastomyzeten viel früher verschwunden sind, als es bei den früheren Experimenten der Fall war. Die Erklärung dafür möchte ich aus den morphologischen Unterschieden beider Hefearten herleiten. Die Logoshefe ist einmal viel gröfser als die früher erwähnte und überdies sind die Zellen zu dicken Klumpen vereinigt, welche durch Schütteln schwer zu trennen sind, was leicht an einer Bierwürzekultur makroskopisch zu sehen ist. Dieser Zustand wird durch Azeton noch verstärkt. Vermutlich deshalb setzen sich dieselben bald nach der Injektion und zwar vorzugsweise am grofsen Netz an, wo man bei der Sektion die Blastomyzeten in Klumpen, umgeben von zahlreichen polynukleären Leukozyten vorfinden kann. Dieser eigentümliche Zustand kann auch als Grund für die bald schwindende Phagozytose ansehen werden. Die Leukozyten phagozytieren nämlich nur durch Schütteln oder andere Einflüsse freigemachte Zellen. Man findet dann gewöhnlich nur eine Zelle in einem Mikrophage.

Meerschweinchen Nr. 21 — 290 g.

Beobachtungszeit	Erste Infektion 1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	Zweite Infektion nach 7 Tagen 1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	Dritte Infektion nach 7 Tagen 1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	Sektionsbefund
Direkt	Massenhafte Blastomyzeten.	Blastomyzeten einzeln und in Häufchen, hier u. da Leukoz.	Massenhafte Blastomyzet. Mäfsige Anzahl v. Leukoz.	In der Bauchhöhle etwa 8 ccm gelbliches, flockenreiches Exsudat. Dasselbe zeigt einzelne polynukl. Leukozyten u. vereinzelte kleine Lymphozyten. An der Leber, Milz, Darmschlingen und der Bauchwand befinden sich dicke Eitermassen, die aus polynukleären Leukozyten, zerfallenen Mikrophagen und einzelnen Makrophagen bestehen. In denselben befinden sich freie Blastomyzeten. Sehr starke Adhäsionen am Grofsnetz und zahlreiche Verwachsungen der Baucheingeweide untereinander und mit der Bauchwand. Degener. parenchym. organorum. Tumor lienis. Aus den Eitermassen, aus dem Exsudate u. aus der Milz wurden reine Kulturen von Blastomyz. gezüchtet. Das Blut steril.
1 Std.	Einzel. Leukozyten, Lymphozyten sehr spärlich. Massenhafte Blastomyzeten.	Eine gröfsere Anzahl v. Leukozyten. Viele davon zeigen Phagozytose. Blastomyzeten etwas abgenommen.	Leukozyten haben stark zugenommen. Viele L. zeigen Phagozytose. Spärliche Blastomyzeten.	
2 Stdn.	Leukozyten haben etwas zugenommen. Einzelne Phagozytose zu sehen. Blastomyzet. nehmen ab.	Leukozytose u. Phagozytose bereits entwickelt. Spärliche Blastomyzeten.	Leukozytose u. Phagozyt. bereits entwickelt. Blastomyzet. einzeln zu finden	
3 »	Starke Leukozytose, fast alle L. zeigen Phagozytose. Blastomyzeten sehr spärlich.	Sehr starke Leukozytose, ein Viertel der Zellen zeigt Phagozytose. Blastomyzeten kaum zu finden.	Leuko- und Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	
5 »	Leukozytose sehr stark, die Hälfte der Zellen zeigt Phagozytose, keine freien Blastom,	Reiner Eiter. Weder Phagozytose noch Blastomyzeten.	Leukozytose, Phagozytose kaum zu finden. Keine Blastomyzeten.	
6 »	Desgl.	Desgl.	Reiner Eiter.	
7 »	Leukozytose sehr stark, Phagozytose nimmt bedeutend ab. Keine Blastomyzeten.	Desgl.	Desgl.	
8 »	Reiner Eiter. Keine Phagozytose, keine Blastomyzeten.	Desgl.	Desgl.	
	Das Tier bleibt am Leben ohne auffallend krank z. sein.	Das Tier h. Symptome schwer. Periton. gezeigt, überlebt aber.	Das Tier stirbt nach 12 Stunden.	

Meerschweinchen Nr. 22 — 287 g.

Beobachtungszeit	Erste Injektion mit einer durch Azeton abgetöteten Kultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Zweite Injektion nach 7 Tagen mit einer durch Azeton abgetöteten Kultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Dritte Injektion nach 7 Tagen mit einer durch Azeton abgetöteten Kultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Vierte Injektion nach 7 Tagen mit einer durch Azeton abgetöteten Kultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Sektionsbefund
Direkt	Massenhafte Blastomyzet., vorzugsweise in Klumpen.	Wie bei der Erstinfektion.	Befund wie nach der 1. und 2. Injektion.	Blastomyzet. in Klumpen und vereinzelt. Spärliche Leukozyten.	
1 Std.	Sehr spärliche Leukozyten. Massenhafte Blastom. wie vorher	Größere Anzahl von Leukozyten. Einzelne L. zeig. Phagozytose. Blastomyzet. in Klumpen vorhanden.	Leukozytose bereits entwickelt. Zahlr. L. zeigen Phagozytose. Einzel. Blastomyzeten.	Leukozyten stark zugenommen, viele von ihnen zeigen Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	
2 „	Leukozyten nehmen zu. Fast alle zeigen Phagozytose. Einzelne Klumpen von Blastomyzeten.	Starke Leukozytose. Ein Viertel davon zeigt Phagozytose. Keine Blastomyzet.	Leukozytose, etw. ein Viertel davon zeigt Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	Leukozytose bereits stark entwickelt, zahlreiche Phagozyten. Keine Blastomyzeten.	Das Tier blieb am Leben u. nimmt zu.
3 „	Leukoz. stark entwickelt, zahlreiche L. zeigen Phagozytose. Blastomyz. nicht zu finden.	Leuko- und Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	Leukozytose sehr stark. Phagozytose nimmt ab. Keine Blastomyzeten.	Reiner Eiter. Phagozytose sehr stark abgenommen. Keine Blastomyzeten.	
5 „	Leuko- und Phagozytose, keine Blastomyzeten.	Reiner Eiter. Keine Phagozytose. Keine Blastomyzet.	Reiner Eiter. Zweimal Phagozytose gefunden. Keine Blastomyzeten.	Reiner Eiter. Keine Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	
6 „	Reiner Eiter. Keine Phagozytose. Keine Blastomyz.	Reiner Eiter. Keine Blastomyzeten.	Reiner Eiter. Keine Blastomyzeten.	Desgl.	
7 „	Desgl.	Desgl.	Desgl.	Desgl.	
8 „	Desgl.	Desgl.	Desgl.	Desgl.	
	Das Tier ist vollkommen munter und frifst.	Das Tier ist munter und bleibt am Leben.	Das Tier vollkommen munter.	Das Tier ist vollkommen munter.	

Meerschweinchen Nr. 23. — 260 g.

Beobachtungszeit	Erste Injektion 1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	Zweite Injektion nach 7 Tagen 1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	Dritte Injektion nach 7 Tagen 1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	Sektionsbefund
Direkt	Massenhafte Blastomyzeten vereinzelt und in Klumpen. Keine Leukozyten.	Zahlreiche Blastom. einzeln und in Klumpen. Einzelne Leukozyten.	Blastomyzet. in Klumpen. Spärliche Leukozyten.	In der Bauchhöhle etwa 10 ccm gelbliches Exsudat, in dem sich einzelne polynukleäre Leukozyten befinden. An der Leber u. an anderen Eingeweiden dicke Eitermassen, die vorzugsweise aus polynukl. Leukozyten und freien Blastomyzeten bestehen. Einzelne Makrophag. vorhanden. Starke fibröse Adhäsionen zwisch. Omentum, Baucheingeweiden u. Bauchwand. Degeneratio parenchymatosa organorum. Tumor lienis. Aus dem Exsudate, Milz und Eitermassen wurden reine Kulturen von Blastomyzeten gezüchtet. Das Blut steril.
1 Std.	Einzelne Leukozyten. Zahl der Blastomyzeten kaum verändert.	Blastom. wie vorher. Etliche Leukozyten, viele davon zeig. Phagozytose.	Eine Anzahl von Leukozyten, fast alle zeig. Phagozytose. Die Zahl der Blastomyz. stark abgenommen.	
2 Stdn.	Die Leukozyt. sind zahlreicher. Fast die Hälfte zeigt Phagozyt. Die Zahl der Blastomyzeten kaum bemerkbar verändert.	Leukozytose, Phagozytose, einzelne Blastomyzeten zu zu finden.	Starke Leukozytose, die Phagozytose nimmt ab. Keine Blastom. zu finden.	
3 »	Starke Leukozytose, $^3/_4$ davon zeigen Phagozytose. Blastom. spärlich vorhanden.	Leukozytose u. Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	—	
4 »	Leukozytose stark, Phagozyt. scheint etwas abgenommen zu haben. Blastom. sehr spärlich.	Leukozytose sehr stark. Phagozytose vereinzelt. Keine Blastomyzeten.	Leukozytose sehr stark, einzelne Phagozyt. Keine Blastomyzeten.	
5 »	Leukozytose w. vorher, Phagozytose abgenommen. Keine Blastomyzeten.	Starke Leukozytose, Phagozytose sehr spärlich. Keine Blastomyzeten.	Leukozytose nimmt noch immer zu, Phagozytose nur einmal gefunden, keine Blastomyzeten.	
6 »	Desgl.	Desgl.	Rein. Eiter. Keine Blastom.	
7 »	Rein. Eiter. Weder Leuko- noch Phagozyt. Blastom. n. z. finden.	Reiner Eiter. Keine Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	Desgl.	
8 »	Desgl.	Desgl.	Desgl.	
	Das Tier lebt.	Das Tier schwer hinfällig und bleibt trotzdem am Leben.	Das Tier stirbt in der Nacht.	

Meerschweinchen Nr. 24. — 210 g.

Beobachtungszeit	Erste Injektion mit durch Azeton abgetöteter Kultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Zweite Injektion mit durch Azeton abgetöteter Kultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Dritte Injektion mit durch Azeton abgetöteter Kultur + 2 ccm NaCl-Lösung	Sektionsbefund
Direkt	Massenhafte Blastomyzeten in Klumpen.	Zahlreiche Blastomyzeten in Klumpen und vereinzelt.	Massenhafte Blastomyzeten, vorzugsweise in Klumpen.	—
1 Stunde	Einzelne Leukozyten. Blastomyzeten wie vorher.	Die Zahl der Leukozyten sehr klein. Sonst wie vorher.	Mäfsige Anzahl von Leukozyten. Ziemlich alle zeigen Phagozytose. Die Zahl der Blastomyzeten scheint abgenommen zu haben.	
2 Stunden	Die Zahl der Leukozyten hat etwas zugenommen. Fast alle zeigen Phagozytose. Einzelne Blastomyzeten.	Leukozytose nimmt zu. Phagozytose zu finden. Keine Blastomyzeten.	Starke Leukozytose, etwa $^1/_3$ davon zeigt Phagozytose. Keine Blastomyzeten.	
3 »	Leukozytose stark entwickelt. Phagozytose nimmt ab. Keine Blastomyzeten.	Leukozytose, Phagozytose Keine Blastomyzeten.	Leukozytose sehr stark. Phagozytose kaum zu finden. Keine Blastomyzeten.	
4 »	Leukozytose stark, Phagozytose hier u. da zu finden. Kein. Blastom.	Desgl.	Desgl.	
5 »	Leukozytose sehr stark. Weder Phagozytose noch Blastomyzeten.	Reiner Eiter. Keine Blastomyzeten.	Reiner Eiter. Keine Blastomyzeten.	
6 »	Reiner Eiter. Keine Blastomyz.	Desgl.	Desgl.	
7 »	Desgl.	Desgl.	Desgl.	
8 »	Desgl.	Desgl.	Desgl.	
	Das Tier zeigt keine Krankheitssymptome.	Das Tier vollkommen munter.	Das Tier bleibt am Leben.	

Der Sektionsbefund unterscheidet sich von dem bei den früher erwähnten Tieren gar nicht.

Weiterhin schien es erforderlich, festzustellen, wie lange der eigenartige Körperzustand, welcher die Überempfindlichkeit bedingt, anhält; im Zusammenhange damit wurde auch die kleinste Menge von Blastomyzeten zu bestimmen gesucht, welche zu einer Herbeiführung noch ausreicht. Zu diesem Versuche wurde nur die Torulahefe verwendet. Die Versuchsanordnung ist aus der Tabelle ersichtlich.

Versuchstier	Erstinjektion	Intervall zwischen der 1. und 2. Injektion	Zweitinjektion	Intervall zwisch. der 2. u. 3. Injektion	Drittinjektion	Ausgang
Meerschw. Nr. 34	$^1/_4$ Kultur + $^1/_2$ ccm Na Cl-Lösung	6 Tage	$^1/_4$ Kultur + $^1/_2$ ccm Na Cl-Lösung			Lebt.
Nr. 36.	$^1/_2$ Kultur + 1 ccm Na Cl-Lösung	6 Tage	Desgl.			Lebt.
Nr. 40.	$^1/_2$ Kultur + 1 ccm Na Cl-Lösung	6 Tage	$^1/_2$ Kultur + 1 ccm Na Cl-Lösung			Lebt.
Nr. 42.	$^1/_2$ Kultur + 1 ccm Na Cl-Lösung	6 Tage	$^3/_4$ Kultur + $1^1/_2$ ccm Na Cl-Lösung			Schwerkrnk., lebt.
Nr. 43.	$^3/_4$ Kultur + $1^1/_2$ ccm Na Cl-Lösung	6 Tage	$^3/_4$ Kultur + $1^1/_2$ ccm Na Cl-Lösung			Stirbt nach 16 Stdn.
Nr. 44.	2 Kulturen + 4 ccm Na Cl-Lösung	6 Tage	$^1/_4$ Kultur + $^1/_2$ ccm Na Cl-Lösung			Lebt.
Nr. 38.	1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung	8 Tage	1 Kultur + 2 ccm Na Cl-Lösung			Stirbt in der Nacht.
Nr. 39.	Desgl.	10 Tage	Desgl.			Stirbt nach 20 Stdn.
Nr. 45.	Desgl.	14 Tage	Desgl.			Stirbt nach 36 Stdn.
Nr. 46.	Desgl.	21 Tage	Desgl.			Schwerkrnk., lebt.
Nr. 48.	Desgl.	30 Tage	Desgl.			Lebt.

Um Tiere überempfindlich zu machen, ist somit mindestens die Hefenmenge von $^{3}/_{4}$—1 Agarkultur bei intraperitonealer Einspritzung erforderlich, wenn die Zweitinfektion mit der gleichen Menge vorgenommen wird. Festzustellen, welche kleinste Hefenmenge bei schon ausgebildeter Überempfindlichkeit genügt, um schwere Krankheit und Tod herbeizuführen, war wegen Tiermangels noch nicht möglich.

Es erschien auch wichtiger, die Dauer des allergischen Zustandes der Versuchstiere zu ermitteln, wobei sich mit Sicherheit feststellen liefs, dafs er sich nicht über den Zeitraum von 3 bis 4 Wochen hinauserstreckt und schon nach ca. 2 Wochen nicht mehr so deutlich wie nach einer Woche ausgebildet ist. Das stimmt fast auf den Tag mit der Überempfindlichkeit überein, die Nakayama bei seinem Versuch mit Aktinomyzes erzeugen konnte.

Wie bereits früher erwähnt wurde, soll und kann der Versuch nicht gemacht werden, aus dem Berichte über die Ergebnisse der Überempfindlichkeitsstudien mit Hefen, Schlüsse allgemeiner Natur über Phänomen der Überempfindlichkeit überhaupt zu geben. Denn ganz offenkundig stimmt die allergische Reaktion des Meerschweinchenorganismus gegen Hefe und gegen Aktinomyzes (Nakayama) nur in den allgemeinsten Zügen mit der des menschlichen Organismus gegen fremdes Serum (von Pirguet und Schick) überein. Dafs beiden ein gemeinsamer Typus zugrunde liegen und eine gemeinsame Erklärung für beide gefunden werden mufs, wird nicht bezweifelt werden können, vorläufig ist die Verschiedenheit der Details noch zu grofs, um die übereinstimmung des Prinzips klar hervortreten zu lassen.

Auf gewisse Punkte mufs aber trotz dieser notwendigen Selbstbeschränkung etwas näher eingegangen werden.

Zunächst könnte eingewendet werden, dafs die Tiere nach der ersten Injektion im allgemeinen körperlich so herabgekommen wären, dafs sie eine zweite Erkrankung nicht mehr Überstehen könnten.

Diesen Einwurf hat schon Nakayama in Betracht gezogen: »Tatsächlich ist die Ernährung der Tiere im Stadium, in welchem

die Überempfindlichkeit am stärksten hervortritt, bedeutend mehr als in den späteren Stadien gestört, wo sie weit schwächer in Erscheinung tritt.«

Er hat auch bereits darauf hingewiesen, »dafs die Überempfindlichkeit, wenn sie nur auf einer allgemeinen Unterernährung beruhen würde, auch dann hervortreten müfste, wenn die Tiere einer anderen Schädigung, z. B. der Einspritzung von Tuberkelbazillen, ausgesetzt werden, was aber nicht der Fall ist.«

Wie aus nachstehender Tabelle (S. 141) ersichtlich ist, kann für Hefeversuche der Einwand einer durch die Erstinjektion gesetzter Krankheit, die sich in Ernährungsstörungen äufsern müfste, überhaupt nicht vorgebracht werden, da die Tiere am zweiten bzw. dritten Tage nach der ersten Injektion zwar etwas an Gewicht abnehmen, von diesem Zeitpunkte aber an Gewicht beständig gewinnen und dies bei vollster Überempfindlichkeit. Dies wurde bei Meerschweinchen wie bei Kaninchen beobachtet.

Krankheit nach der ersten Injektion der Hefe zeigte sich oft gar nicht und besonders wenn Kapillarentnahmen vermieden wurden. Einige Tiere waren sogar etwa 8 Stunden nach der ersten Injektion vollkommen munter, haben lustig an in den Käfig geworfenen Kohlrübenblättern genagt, ohne die kleinsten Symptome einer Erkrankung zu zeigen.

Die Überempfindlichkeit gegen Hefe schliefst sich, wofür auch andere Erscheinungen sprechen, der gegen Aktinomyzes und gegen Tuberkulose an, und diese drei bilden offenbar eine besondere Gruppe, innerhalb deren sie eine gewisse Abstufung des Überempfindlichkeitsphänomens vertreten. Bei Tuberkulose handelt es sich um Tiere, welche durch aktive Ansiedelung des Antigens unheilbar krank geworden sind, bei Aktinomyzes vermag das Antigen sich noch eine Zeitlang im Tiere zu halten und eine Krankheit, allerdings nur lokaler Natur, hervorzurufen, bei Hefen, die hier verwendet wurden, fehlt jeder tiefgehende spezifische Einflufs auf den Organismus: und dennoch tritt überall die Überempfindlichkeit mit ihren verderblichen Folgen, wenn auch nicht in ganz gleicher, so doch in vergleichbarer Weise auf.

Tabelle über das Körpergewicht der Versuchstiere.

Versuchstiere	Körpergewicht vor der ersten Injektion	Körpergewicht nach der Injektion in Gramm				
		24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	4 Tage	5 Tage
	g					
Meerschweinchen Nr. 15 . .	200	195	205	nimmt zu		
» Nr. 18 . .	210	208	225	»	»	
» Nr. 25 . .	250	215	220	225	238	
» Nr. 32 . .	230	218	211	232	235	235
» Nr. 33 . .	215	210	205	215	217	220
Kaninchen Nr. 1	490	460	470	nimmt zu		
» Nr. 2	680	650	675	»	»	
» Nr. 3	708	720	720	730	nimmt zu.	

Trotzdem wäre es auch für Hefen gewagt, ihnen jede krankmachende Fähigkeit abzusprechen. Es sei in dieser Hinsicht auf ausgesprochene Krankheitserscheinungen verwiesen, die von Hefen ausgehen können (Busse, Curtis, Gilchrist, Sanfelice, L. Rabinowitsch, Casagrandi, Tokishige, Hueppe etc. ([18]), und es sei weiter daran erinnert, dafs es immerhin möglich erscheint, dafs auch anscheinend ganz unschuldige Hefen bei besonderem Einführungsakt doch Krankheit erzeugen könnten. Der eigentliche Marasmus, den Tuberkelbazillen bei Injektion der Kulturen ins Herz machen, und der mit dem gewöhnlichen Verlauf der Tuberkulose bei Meerschweinchen gar keine Ähnlichkeit mehr hat, mahnt hier zur Vorsicht.

Weiter ventiliert Nakayama die Annahme, »dafs der Tierkörper eine Woche nach der Erstinfektion mit drei Agarkulturen (die meist verwendete Dosis) so sehr mit Giftstoffen, sei es dafs diese durch Zufall von Myzelien entstehen, oder dafs sie erst im Körper produziert werden, überladen ist, dafs das Leben der Tiere nicht die geringste Zunahme des Giftes mehr verträgt.«

Diesen Einwand widerlegte derselbe Autor dadurch, dafs er 12 Agarkulturen auf einmal injizierte, die die Tiere ebensogut wie die drei Agarkulturen vertrugen.

Ganz Ähnliches gilt auch für Hefe. Denn wurden auf einmal drei Agarkulturen von lebenden Blastomyzeten Meer-

schweinchen intraperitoneal injiziert, so vertrugen dieselben diese dreifache Dosis ebensogut wie nur eine Agarkultur.

Nakayama fand bei seinen Zweitinfektionen mit Aktinomyzes einen bedeutungsvollen Unterschied gegenüber dem Verhalten der Tiere bei der ersten Einspritzung, indem die Leukozyten in den späteren Stunden, statt an Zahl zuzunehmen, sich auffällig stark verminderten. Bail konnte bei ausgesprochener, hochgradiger Tuberkuloseüberempfindlichkeit an Meerschweinchen feststellen, dafs nach Injektion gröfserer Bazillenmengen überhaupt keine Leukozyten ins Peritoneum übertreten.

Bei meinen Hefeversuchen war von diesem Verhalten nichts zu finden. Auch beim überempfindlichen Tiere wandern Zellen anscheinend ungehindert in die Bauchhöhle ein, ein wesentlicher Unterschied in der Phagozytose, wie im Verschwinden der Hefen aus dem freien Peritonealraum gegenüber der Erstinfektion konnte trotz aller angewendeten Sorgfalt nicht mit Sicherheit aufgefunden werden. Das Einzige, was vielleicht festzustellen war, ist die auf S. 35 erwähnte gröfsere Labilität der polynukleären Zellen bei der Zweitinfektion, ein Befund, aus dem zurzeit irgendwelche Schlüsse nicht gezogen werden können. Die Hefeempfindlichkeit gleicht in ihrer Erscheinung vollständig jener Form der Tuberkuloseüberempfindlichkeit beim Meerschweinchen, welche Bail beschrieb, wo bei noch relativ wenig ausgebildeter Krankheit die Injektion gröfserer Bazillenmengen den Tod hervorrief, obwohl Leukozyten in gröfster Zahl in die Bauchhöhle einwanderten und darin bis zum Tode verblieben. Genau wie bei Hefe hatte dann das eitrige Exsudat keinerlei Wirkung im Tierversuch.

Im übrigen sei noch erwähnt, dafs bereits Nakayama die Vermutung, dafs die Hyperleukozytose der Peritonealhöhle für die Überempfindlichkeit von Bedeutung sein möchte, dadurch zurückweisen konnte, dafs er Meerschweinchen 4 ccm Aleuronatlösung intraperitoneal injizierte und am nächsten Tage das Meerschweinchen mit drei Agarkulturen von Aktinomyces + 4,5 ccm NaCl-Lösung. Es findet schon, wenn man so vorgeht, nach zwei Stunden eine sehr starke Leukozytose und Phagozytose statt, die

das Tier überlebt. Ein anderes Meerschweinchen bekam drei Agarkulturen + 4,5 ccm NaCl-Lösung und nach 6 Tagen 4 ccm Aleuronatlösung, beide wiederum intraperitoneal. Das Tier zeigte starke Leukozytose, sonst keine Erscheinungen. Bekam jedoch dasselbe am nächsten Tage wieder 3 Agarkulturen + 4,5 ccm NaCl-Lösung, so starb es nach 9 1/2 Stunden.

In Kürze sei noch darauf hingewiesen, dafs die vorliegenden Versuche keinerlei Anhaltspunkte für die Annahme der Tätigkeit von Antikörpern ergeben haben, die im Sinne von Pirguet und Schick die injizierte Hefe in eine giftige Modifikation umwandeln oder die Resorption von an sich giftigen Leibesbestandteilen im Sinne von Wolff befördern könnten. Von der Wirkung der Serumaktivität, die man sehen müfste, Agglutination oder Bakteriolyse, war nie das Geringste zu bemerken. Das stimmt überein mit den Angaben über Reaktionsprodukte des Organismus auf Hefeinjektionen, die ergeben hatten, dafs es nur schwer gelingt, gegen Hefe wirksame Sera herzustellen.

Malvoz (19) behandelte Kaninchen mit Blastomyzeten de Hay, Sanfelice und B. E. (aus einem Epitheliom) und ist zum Resultate gekommen, wie folgt:

»Des diverses propriétés susceptibles d'être acquises par un sérum d'animal immunisé, on ne constate in vitro dans le sang frais des animaux traités par les blastomycètes que le pouvoir agglutinant, et à un titre peu élevé, malgré la répétition des injections. Le pouvoir cytotoxique du sérum n'apparaît pas in vitro, soit à cause de l'absence d'anticorps sensibilateur dans les humeurs soit parce que la capsule des levures les protège contre les alexines.«

Hierher gehören auch die Arbeiten von Bissérie (20), Brouha (21) und Sanfelice (22), der zwar Antikörper im Blute mit abgeschwächten Kulturen behandelter Tiere findet jedoch nicht im Blutserum in aktiver blastomyzetischer Infektion begriffener Tiere, auf die wir jedoch nicht näher eingehen können.

Auch das rasche Verschwinden der Überempfindlichkeit stimmt mit der Annahme von Antikörpern, die nach Art von Zytolysinen wirken würden, nicht überein, und so charakterisiert

sich die Überempfindlichkeit gegen Hefe als eng zu derjenigen gegen Aktinomyzes gehörig, während bei Tuberkulose natürlich nie ein Verschwinden sondern nur eine Steigerung der Überempfindlichkeit möglich ist.

Von grofser Wichtigkeit scheint die Feststellung zu sein, dafs abgetötete Hefe nicht mehr imstande ist, Überempfindlichkeit hervorzurufen, und dafs solche auch bei einer Überempfindlichkeit, die durch lebende Hefe erzeugt ist, nicht mehr tödlich wirkt. In meinen Versuchen wurde die Abtötung mit Azeton herbeigeführt, einem Mittel, das wohl als das schonendste bezeichnet werden mufs, da es nach übereinstimmenden Angaben (Buchner [23]) auch die labilsten Fermente der Zelle, darunter die Zymase, ungeschädigt läfst. Dennoch ist eine solche Hefe absolut nicht mehr imstande, den Zustand der Tiere zu einem allergischen zu machen. Dabei sei darauf hingewiesen, dafs Bail bei Versuchen mit toten Tuberkelbazillen (Abtötung durch Hitze) an überempfindlichen Meerschweinchen nicht zu ganz sicheren Resultaten gelangen konnte.

Daraus ergibt sich aber für die Hefeüberempfindlichkeit und möglicherweise für die ganze Gruppe, der sie unzweideutig angehört, ein wichtiger Schlufs; entweder führt die Überempfindlichkeit gegen Hefe überhaupt gar nicht auf deren Körpersubstanz zurück, sondern wird durch das Leben der eingespritzten Zelle an sich, ihre Vitalität bedingt, oder die Ursache der Überempfindlichkeit ist ein Bestandteil der Hefezelle von so aufserordentlicher Labilität, dafs sie auch die schonendste Abtötungsmethode nicht zu überdauern vermag und mit dem Leben der Hefe selbst verloren geht. Beide Thesen brauchen, wie sofort ersichtlich, nicht im direkten Gegensatze zu stehen.

Zum Schlusse seien die Sektionsbefunde im allgemeinen zusammengefafst. Die Schädelhöhle und das Gehirn wurden nicht näher untersucht.

In der Pleurahöhle findet sich meist eine geringe Menge von gelblichem, klaren Exsudate, in dem sich einzelne Mikro- und Makrophagen und desquammierte Epithelien befinden. Freie Blastomyzeten wurden zwar mikroskopisch nicht gefunden, dennoch

wachsen reine Blastomyzetenkulturen aus demselben. Die Pleura parietalis ist etwas hyperämisch, sonst zeigt sie keine Veränderungen. Die Lunge ist gewöhnlich lufthaltig, seltener findet man atelektatische Herde, die eine geringe Infiltration in dem Bindegewebe, eine Desquammation von Alveolarepithelien und eine gröfsere oder kleinere Menge von Blastomyzeten in Alveolarräumen zeigen. Aufserdem findet man häufig hyperämische Partien in der Lunge, die mikroskopisch näher nicht untersucht wurden, aus denen man jedoch stets Blastomyzeten züchten konnte.

Im Herzbeutel findet man eine kaum veränderte Menge von Liquor pericardii, welcher keine Veränderungen aufweist. Die Herzmuskulatur zeigte bei etlichen Tieren trübe Schwellung leichten Grades, bei anderen Tieren war sie unverändert. Aus dem Herzmuskel wurden nie, aus dem Herzblute öfters Blastomyzeten gezüchtet.

Die Milz war vergröfsert, die Kapsel trüb, bedeckt von Eitermassen, die Pulpa weich, reichlich vorhanden, von gelbrötlicher Farbe. In derselben kann man mikroskopisch freie Blastomyzeten leicht erkennen und aus derselben wurden sie immer gezüchtet.

Die Niere ist nicht vergröfsert, die Kapsel leicht abziehbar, das Parenchym mehr oder weniger parenchymatös degeneriert. Mikroskopisch findet man Blastomyzeten, hie und da in Harnkanälchen und reichlicher in Glomerulis. Aus der Niere wurden dieselben auch in reinen Kulturen gezüchtet.

Die Nebenniere weist keine makroskopischen Veränderungen auf.

Die Leber war gewöhnlich etwas vergröfsert, ihre Kapsel trüb, bedeckt mit Eitermassen, das Parenchym mehr minder parenchymatös degeneriert. Aus der Leber liefsen sich reine Blastomyzetenkulturen gewinnen.

Die Darm- und Magenschleimhaut zeigt keine Veränderungen, nur in einem Falle schien sie etwas hyperämisch zu sein. Die Mesenterialdrüsen sind etwas vergröfsert, aus denselben kann man steht Blastomyzeten züchten.

In der Bauchhöhle befindet sich Exsudat, welches bei einzelnen Tieren bereits beschrieben wurde. Das Peritoneum ist hyperämisch (stellenweise findet man Hämorrhagien), und ist mit den bereits beschriebenen Eitermassen bedeckt. Das Grofsnetz ist gegen die grofse Kurvatur des Magens zusammengeschrumpft, mit Leber, Darmschlingen und Pankreas zusammengewachsen. Auf demselben befinden sich Knötchen, die vorzugsweise aus Makrophagen und freien Blastomyzeten bestehen. Beim Tiere Nr. 2, welches zufälligerweise zwei Injektionen überstanden hat und bei der dritten gestorben war, wurden zwei Geschwülste gefunden, die etwa haselnufsgrofs waren und subkutan in der Inguinalgegend safsen.

Dieselben wiesen an der Peripherie einen konsistenten Teil und in der Mitte erweichte Partien auf. Die erweichten Stellen bestehen aus poly- und mononukleären Leukozyten und aus Makrophagen. Ringsum befand sich Granulationsgewebe. Eine ähnliche Geschwulst wurde in der Bauchhöhle mit dem Pankreas verwachsen und an das Grofsnetz fixiert gefunden, und nach der von Busse angegebenen Methode behandelt.

[Hämateinlösung 15 Minuten.
Abspülen in Brunnenwasser 5 Minuten.
Dünne Karbolfuchsinlösung (Ziehlsche Lösung, einmal zu 20 Teilen destilliertes Wasser) $^1/_2$—24 Stunden.
Entfärben in Alkohol, wenige Sekunden bis einige Minuten.
Absol. Alkohol.
Xylol, Kanadabalsam.]

Wie die histologische Untersuchung ergab (Tafel I), besteht diese Geschwulst aus einem Granulationsgewebe, welches zwischen den Zellen verteilte Blastomyzeten aufweist. Dieselben sind rot gefärbt, dagegen die Gewebskerne blau. In der Mitte befand sich eine erweichte Stelle, wo man grofse Zellen, deren Kerne gegen die Wand gedrängt sind, und die in sich eine Menge von rot gefärbten, eingeschlossenen Blastomyzeten aufweisen sieht. Aufserdem sieht man dort einzelne polynukleare Leukozyten.

Literatur.

1. Richet, De l'anaphylaxie ou sensibilité croissante des organismes à des doses successives de poison. Archivio di fisiologia Jan. 1804, p. 129.
   —, De l'action de la congestine sur les lapins et de ses effets anaphylactiques. Soc. de biol. 21. Jan. 1905.
   —, De l'anaphylaxie après injections de congestine chez le chien. Ibidem.
2. Behring u. Kitashima, Über Verminderung und Steigerung der ererbten Giftempfindlichkeit Berlin. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 6, S. 157.
3. Knorr, Experimentelle Untersuchungen über die Grenzen der Heilungsmöglichkeit des Tetanus. V. 102, 18.
4. Kretz, Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. 23.
5. v. Pirquet u. Schick, Zur Theorie der Inkubationszeit. Wiener klin. Wochenschr. 1903. Nr. 26, 45.
   —, Zur Frage des Aggressins. Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 17.
   —, Die Serumkrankheit. 1905.
   —, Überempfindlichkeit und beschleunigte Reaktion. Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 2.
   v. Pirquet, Zur Theorie der Vaccination. Verhandlungen der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte. Kassel 1903.
   —, Allergie, Münch. med. Wochenschr., 1906, Nr. 30.
6. Arthus, Injections répétées de sérum de cheval chez le lapin. Soc. de biol. 1903, 20. Juin, p. 817.
7. Rosenau u. Anderson, A study on the cause of sudden death folowing the injection of horse serum. Hyg. Lab. U. S. Pub. Health and Mar. Hosp. Serv. Washington 1906. Bull. Nr. 29.
8. A. Wolff, Über Grundgesetze der Immunität. Zentralbl. f. Bakt. 1904. Ibidem 1906. Bd. 40, Nr. 3. Münchener med. Wochenschr. 1906. Nr. 5. Das Heufieber, München 1906
9. Courmont, Études sur les substances solubles prédisposantes à l'action pathogène de leurs microbes producteurs. Rev. de Med. 1891. Nr. 10. Ref. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 13, S. 714.
10. Straufs u. N. Gamaleia, Recherches experimentales sur la tuberculose. Arch. de méd. experim. III. Juli 1899.
11. Babes u. Proca, Untersuchungen über die Wirkung der Tuberkelbazillen und über gegenwirkende Substanzen. Zeitschr. f. Hyg., XXIII, S. 331.
12. Detre-Deutsch, Superinfektion u. Primäraffekt. Wien. klin. Wochenschrift 1904, Nr. 27.
13. O. Bail, Überempfindlichkeit bei tuberkulosen Tieren. Wiener klin. Wochenschr. 1904, S. 30.
    —, Über Giftwirkung von Tuberkelbazillen beim Meerschweinchen. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 46.

O. Bail, Der akute Tod von Meerschweinchen an Tuberkulose. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 9.

14. Finger u. Landsteiner, Sitzungsbericht d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. M.-N.-Klasse. April 1906.

15. Rist, Sur la toxicité de corps de bacilles diphthéritiques. Soc. de Biol. 1903. Nr. 25.

16. Nakayama, Impfversuche mit Actinomyces asteroides Eppinger an Meerschweinchen. Arch. f. Hyg., Bd. LVIII.

17. A. Schattenfroh, Über die Beziehungen der Phagozytose zur Alexinwirkung bei Sprofspilzen und Bakterien. Arch. f. Hyg, 1896.

18. Kolle-Wassermann, Handb. der path. Mikroorgan.: Die Sprofspilze v. O. Busse. S. 661.

19. Malvoz, Sur les propriétés du serum des animaux, traités par les blastomycêtes. Zentralbl. f. Bakt., 29.

20. Bissérie, Sérum agglutinant des levures. Soc. de biol., 23. II.

21. Brouha, Sur les propr. du sérum des cancereux au point de vue aux anticorps des levures. Zentralbl. f. Bakt. 1901, Nr. 25.

22. Sanfelice, Die Antikörper des Blutserums mit Blastom. behandelter Tiere. Zentralbl. f. Bakt. 32. S. 360.

23. E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Die Zymasegärung. München und Berlin 1903. S. 243, 265 etc.

Zur Kenntnis des Sielwassers.

Von

Max Rubner.

I.

Fast alle Städte geben bestimmte Vorschriften für den maximalsten Temperaturgrad, mit welchem Kondenswässer (von Maschinen) in Kanäle eingeleitet werden dürfen. Es ist dies mit Rücksicht auf die Haltbarkeit des Mauerwerkes und der Gesundheit der Kanalarbeiter von Bedeutung.

Merkwürdigerweise liegen sehr wenige genauere Messungen der Temperaturen im Kanalinneren vor. Ich habe daher einige Messungen vornehmen lassen. Da sich Luft und Wasser unter den im Kanal herrschenden Verhältnissen gut ausgleichen, habe ich die Untersuchung der ersteren ins Auge gefafst.

Gelegentlich einiger Fragen, welche die Kanalluft betrafen (1901, Januar), wurden mehrere Tage durch registrierende Thermometer und Hygrometer Wärme und Feuchtigkeit untersucht. In zwei gröfseren Stammsielen wurde die Luft stets mit Feuchtigkeit gesättigt gefunden. Im freien herrschte starke Kälte — 8 bis — 10°. Der eine Kanal, Gitschinerstrafse, welcher rund 140—370 Sek.-l führt, zeigte eine fast ganz gleichmäfsige Temperatur von + 12° bis 15° C., der andere am Potsdamertor (88—338 Sek.-l führend) ergab im Gegensatz zu dem ersteren eine ausgeprägt regelmäfsige an den einzelnen

Tagen wiederkehrende Temperaturkurve. Nach einem Minimum (5 Uhr früh) von + 17° wurden in steilem Anstieg um 6 Uhr früh des ersten Tages + 25° erreicht. Dann langsames Abfallen auf 24° bis 7 Uhr abends. Von diesem Zeitpunkt fällt die Kurve erst rasch, dann nach 12 Uhr nachts langsamer auf das Minimum + 18°. Ebenso verhielt es sich an den folgenden Tagen. Die Kanäle führen enorme Mengen ungenutzter Wärme aus den Städten ab; sie sind es, die offenbar auch nach Art einer künstlichen Heizung den Strafsenboden erwärmen und bei geringer Kälte die Schneeschmelze herbeiführen. Es ist bedauerlich, dafs sich bis jetzt keine Möglichkeit gefunden hat, diese Unsumme von verschleuderter Wärme anderweitig nutzbar zu machen.

Die beiden Kanalsysteme waren ein von seiten der städtischen Verwaltung als Beispiele a) eines Siels, das wenig oder kein Kondenswasser führt = Gitschinerstrafsensiel, und b) als Siel mit reichlichem Kondenswasser = jenes am Leipzigerplatz, bezeichnet worden. Man sah in der Tat bei b) die gröfsere Wärmeabfuhr bestätigt.

Auch läfst sich an der Wärmekurve leicht feststellen, zu welcher Zeit gröfsere Mengen Kondenswasser ins Sielnetz fliefsen.

Die Erwärmung des Sielwassers übt einen sehr merkbaren Einflufs auf die Austreibung von Gasen; im vorliegenden Falle kommt hauptsächlich Schwefelwasserstoff in Betracht. Der Geruch solch warmen Kanalwassers ist aber so kompliziert, dafs er eigentlich ein undefinierbares Gemisch darstellt und wohl, wie es in der Natur der Sache liegt, sehr wechselnde Dinge enthalten wird. Unter Umständen können bei Fabrikabwässern hochgradig giftige Gase in Frage kommen, deren Absorption in kühlerem Sielwasser möglich und erwünscht sein kann. In den »warmen« Kanälen gibt es natürlich auch umfangreichere Fäulniserscheinungen.

Da bis jetzt Analysen von Sielhäuten, wie es scheint, nicht mitgeteilt sind, habe ich einige Proben gesammelt.

Sie bestanden aus gallertiger Masse, enthielten vor allem Schimmelpilze, die das Gerüste bildeten, dazwischen Bakterien, namentlich Stäbchen, aber auch Kokken und Vibrionen.

Die sehr wasserreiche Substanz gab für die Trockensubstanz berechnet:

10,84 % Asche,
8,50 % N.

Chemische und biologische Klärung der Abwässer.

Von

Max Rubner.

Die Einleitung der städtischen Abwässer in offene Wasserläufe hat hinsichtlich ihrer sanitären Zulässigkeit eine recht schwankende Beurteilung gefunden, da man sich, wie ich auch a. O. (Archiv f. Hyg., Bd. XLVI, S. 5) auseinandergesetzt habe, über den Begriff Flufsverunreinigung und der zulässigen Grenzen einer solchen der differentesten Anschauung hingab, und nicht einmal es für nötig fand, eine gewisse historische und literarische Kontinuität zu wahren. Die drei Hauptetappen von der Lehre der Flufsverunreinigung sind leicht auseinanderzuhalten, indem man einmal darunter eine Flufsverunreinigung grobsinnlicher Art mit Fäulnis im Wasser und Schlammbankbildung verstand, dann wurde damit eine Veränderung des Wassers, die mit der Methode der Wasseranalyse nachweislich war, bezeichnet, und endlich darunter eine bakterielle Veränderung durch mehr oder minder erhebliche Mehrung der Keimzahl im Flufswasser verstanden.

Die drei Typen objektiver Feststellung der Veränderung des Flufswassers wurden zu verschiedenen Zeiten unter Aufseracht-lassung früherer Begriffsbildung als sanitär wichtige Flufsverunreinigungen, d. h. als Vorgänge, welche die Gesundheit zu schädigen in der Lage waren, angesehen.

Damit waren, was die Überwachung der Flufsreinlichkeit betrifft, fortwährend sich steigernde Anforderungen verbunden.

Dies ergibt sich schon aus dem Umstande der verschiedenen Mischungsverhältnisse zwischen Flufs- und Kanalwasser, bei denen solche Zustände zutage treten. Wenn man recht krasse Übelstände gesehen hat, war die Verdünnung des Sielwassers durch Flufswasser eine sehr mäfsige, eine 20- und 25fache Verdünnung des Sielwassers mag ungefähr den Grenzen einer mit den gewöhnlichen Methoden nachweisbaren Verschlechterung des Flufswassers entsprechen, in bakteriologischer Hinsicht aber wird man nach Umständen selbst bei einer 5000fachen oder 10000fachen Verdünnung noch von verunreinigtem Wasser reden können.

Da man so sehr ungleiche Dinge mit gleichen Namen belegte, versteht es sich von selbst, dafs die Aufgabe der öffentlichen Gesundheitspflege bezüglich der Verhütung der Flufsverunreinigung ganz verschieden aufgefafst wurde.

Die erste schärfere Formulierung einer Verunreinigungsgrenze für öffentliche Wasserläufe gab man in den siebziger Jahren des vorigen Jahrhunderts. Gestützt auf rein praktische Erfahrungen kam man zu der Auffassung, dafs die Verhütung aller offenkundigen sinnenfälligen Nachteile der Flufsverunreinigung und eine Beseitigung aller berechtigten Beschwerden unter bestimmten Voraussetzungen möglich sei.

Man verlangte zum mindesten eine 15fache Verdünnung des Sielwassers, was im Durchschnitt für das Flufswasser einer Mehrung um 125 mg Rückstand für den Liter (77 mg Gelöstes), eine Mehrung um 70 mg N, 17 mg Cl Na gleichkam (zugrundegelegt die Mittelzahlen für Sielwasser nach König: »Die Verunreinigung der Gewässer«, Bd. II, S. 9, 1899), Beimengungen, die durch Selbstreinigung und Sedimentierung sich aber bald auf geringere Werte reduzieren mufsten.

Wichtige Untersuchungsergebnisse über Selbstreinigung der Flüsse waren damals durch deutsche und ausländische Forschungen bekannt geworden.

Man hatte aber noch eine weitere Bedingung für die Einleitung städtischer Abgangswässer erkannt, die Strömungsgeschwin-

digkeit eines Gewässers, die man namentlich wegen der Verhütung einer belästigenden Schlammbankbildung als bedeutungsvoll ansah.

Über die tatsächlichen günstigen Wirkungen der eben angegebenen Grenzwerte zur Unschädlichmachung der Einleitung der Abwässer kann kein Zweifel sein; eine wissenschaftliche Erklärung war man nicht in der Lage zu bieten. Wir sind aber heute sehr wohl imstande, die zum Verständnis nötigen Unterlagen zu bringen.

Zunächst ist es die Aufgabe des Flufswassers, das Sielwasser erheblich zu verdünnen, weil dadurch der Nährwert des Gemisches sinkt. Wie ich bewiesen habe, nehmen bei einer solchen Verdünnung die in der Raumeinheit zu irgendeiner Zeit entwicklungsfähigen Bakterien im Mafse der Verdünnung oder noch mehr ab.

Die Bakterien sind, wie Spitta in meinem Laboratorium nachgewiesen hat, die stetige Quelle der Sauerstoffzehrung des Flufswassers, namentlich verunreinigten Wassers.

Die Verdünnung des Kanalwassers im Flufswasser mindert also das für den Kubikmeter Wasser notwendige Sauerstoffbedürfnis, die »Respiration« des Wassers wird durch die Verdünnung mehr oder minder rasch eine aerobe. Zu dem Eindringen des Sauerstoffs trägt in sehr wesentlichem Grade die Bewegung des Wassers bei. Diese unterdrückt das Auftreten typischer Fäulnisprodukte, auch wenn Fäulnisbakterien primär nach ihrem Typus Stoffe zerlegen. Die Sedimentierung entlastet das Flufswasser rasch von einer grofsen Anzahl von Bakterien, was auch die aerobe Durchdringung fördert.

Man hat also auf rein empirischem Wege diese wesentlichen Bedingungen der Fäulnisverhütung richtig bemessen.

Natürlich gibt es noch eine ganze Menge von Fragen, die der Lösung harren; das wissenschaftliche Studium ist noch immer zu wenig systematisch und zerfällt in zu vielerlei Einzelprüfungen.

So glaube ich auch, dafs je nach der Eigenart des Flusses mehr oder minder häufig noch andere Faktoren auf die Art und Menge des Sauerstoffzutritts eine Bedeutung haben.

Mehrfache Beobachtungen im Hügel- und Gebirgsland lassen mir die Annahme, als müfste die gewaltige Durchmischung des Wassers bei Bergbächen zugleich mit dem rauhen Boden, den Sand und Felsblöcken, einen die Reinigung fördernden Einflufs darstellen, als wahrscheinlich erscheinen. Ich habe des öfteren bei Verschmutzungen solcher Wasserläufe eine weite Verschleppung des Unrates erwartet, aber das Gegenteil wahrgenommen; leider war es mir bisher nicht möglich, eine direkte exakte Untersuchung solcher Fälle vorzunehmen.

Man hat zuerst nach dem Vorgange von Pettenkofer angenommen, dafs die 15fache Verdünnung eines Sielwassers bei 0,5 m sekundlicher Geschwindigkeit des Flusses Fäulnis des Wassers und störende Sedimentierung ausschliefse. Ich glaube, dafs diese Werte, weit entfernt Standardzahlen zu bedeuten, doch im ganzen einen richtigen Kern enthalten und für bewegtes Wasser einen Anhaltspunkt für zielgemäfses Handeln bieten.

Die chemische Beschaffenheit des 15fachen verdünnten Sielwassers würde für technische Zwecke in vielen Fällen auf keine Bedenken stofsen. Aber Trinkwasser wird es nicht, nicht nur des Geschmacks wegen, sondern auch wegen des bakteriellen Zustandes.

Grether hat in meinem Laboratorium einige Proben Berliner Abwassers mit Leitungswasser verdünnt und dabei bestätigt gefunden (Archiv f. Hyg. Bd. XXVII, S. 192), dafs zwar die chemischen Abweichungen solchen Gemisches recht unbedeutend sind, dagegen die Bakterienzahlen 250000, 450000, 453000 Keime pro 1 ccm betragen, und höher sind, als man dem Verdünnungsfaktor gemäfs annehmen sollte; eine Tatsache, die sich aus einer späteren Beobachtung von Spitta erklärt, nämlich aus dem Loslösen von Bakterien aus den suspendierten Teilchen, an denen und in denen sie enthalten sind.

In keinem einzigen Falle werden nach mäfsig langem, freiem Lauf dieser Mischung im Flufs auch nur annähernd so viel an Bakterien gefunden werden als direkt nach der Verdünnung, weil sofort beim Einlauf des Kanalwassers ein Teil derselben zu sedimentieren beginnt, ein anderer, der am Grunde sich hält, sein

Sediment absetzt, ohne sich mit dem darüberfliefsenden Wasser gemischt zu haben. Wie die Versuche meines Laboratoriums gezeigt haben, ist ja das Kanalwasser von weit höherem spezifischen Gewicht als das Flufswasser (Monti, Archiv f. Hygiene, Bd. XLVI, S. 121).

Man kann also erfahrungsgemäfs eine Flufsverunreinigung durch obige Mafsnahmen verhüten und sofort die allmählich weiterfortschreitende Selbstreinigung des Flusses einleiten. Aber es kann doch noch das Profil eines Flufsbettes, wie ich schon früher angegeben habe, ein bisher noch nicht experimentell geprüfter Faktor ungleicher Reinigungstendenz sein.

Ein geringer Querschnitt mit grofser Tiefe oder grofser Querschnitt über seichtem Wasser, ungleiche Geschwindigkeit über das Mafs von 0,5 m pro Sekunde hinaus, sind Einflüsse, die durch die Regelung des Sauerstoffzutritts, durch die Berührung mit Sand und Geröll des Flufsbodens, durch Begünstigung oder Verhinderung der Planktonwucherung allerlei eigenartige Verhältnisse schaffen können, die experimentell noch nicht näher dargelegt sind.

Auf die bakteriologischen Unstimmigkeiten solcher Vorschriften, welche nur eine mäfsige Verdünnung des Sielwassers durch ein Flufswasser fordern, ist man natürlich sofort aufmerksam geworden, als man die natürlichen Wasserläufe auf ihren Bakteriengehalt untersuchte.

Millionen von Keimen im Kubikzentimeter eines Abwassers werden durch eine zehn- und hundertfache Verdünnung nur mäfsig geändert.

Der Flufs galt als verunreinigt und verseucht, wenn er reichlich Bakterien enthielt, da man in den Abwässern ja mit Bestimmtheit pathogene Keime als anwesend voraussetzen durfte.

Nunmehr wurden alsbald Vorschläge laut, welche vom Standpunkt der Bakterienzahl die Verhütung der Flufsverunreinigung aufs Korn nehmen wollten.

In der Tat wurden, namentlich zu Beginn der achtziger Jahre, die Flufsverunreinigungen sehr scharf beurteilt und den Städten harte Auflagen behufs Reinigung der Abwässer gemacht. Nicht

nur, dafs eine direkte Einleitung auch unter den günstigsten Umständen als unzulässig erklärt wurde, stellte man an den Reinheitsgrad von Abwässern geradezu widersinnige Anforderungen. Wenn man die Gesichtspunkte, die von einigen Heifsspornen auch amtlich vertreten worden sind, nämlich dafs Abwässer nicht mehr als 300 Keime im Kubikzentimeter beim Einlauf in den Flufs enthalten sollten, hätte durchführen wollen, so wäre man zu dem Schlusse gekommen, dafs das Abwasser reiner sein sollte als der Flufs, und dafs man ein Abwasser mit dem 20000fachen sterilen Wasser hätte verdünnen müssen, um diesen Effekt zu erzielen.

Aber selbst wenn man willkürlich annimmt, dafs die Keimzahl eines Flusses von 1000 auf 2000 vorübergehend wachsen dürfte, sind immerhin noch Verdünnungen auf das 6000—8000fache nötig, um diese Grenze zu erreichen — wenigstens der Rechnung gemäfs.

Ohne sich zu ganz klaren Vorstellungen durchzuringen, hat man aber bald auf diese extravaganten Forderungen verzichtet, und es war ein sehr zutreffender Gedanke, dafs man wie Praufsnitz u. A. als Leitbakterie zu beanstandender Verunreinigung das Bact. coli gewählt hat.

Eine Normierung eines bestimmten Bakteriengehalts im Flufswasser hat um so weniger Berechtigung, als man die Bakterien in ihrer Gesamtzahl gar nicht als Residuen eingeschwemmter Organismen betrachten darf, sondern nach bestimmten Zeiten und unter bestimmten Voraussetzungen mehren sich die Wassersaprophyten selbst.

So schwankte die Beurteilung des Flufswassers hin und her zwischen extremsten Forderungen der Reinheit und allen möglichen Vermittlungsvorschlägen für eine mildere Praxis.

Man hat sich von mancher Seite der Begrenzung der Bakterienzahlen für ganz überhoben betrachtet, weil man das Flufswasser überhaupt nicht als Trinkwasser gelten lassen wollte, das ist aber ein ziemlich gefährliches Argument.

Verzichtet man nämlich auf die Trinkfähigkeit des Flufswassers ganz, so sieht man nicht ein, warum man noch hohe Verdünnungsgrade des Kanalwassers fordert, da ja nur die einfacheren Grade einer störenden Verschmutzung zu beseitigen seien.

Diesen Schlufs will man allerdings doch nicht ziehen. Ohne feste Entscheidungsbasis läfst man sich in der Bemessung der zulässigen Flufsverunreinigung von »lokalen« Erwägungen leiten, ein Verfahren, das manchmal einem Ausweichen vor prinzipiellen Entscheidungen aufserordentlich ähnlich sieht. Die Bedeutung lokaler Einflüsse unterschätze ich durchaus nicht.

Ich denke aber, es gibt eine Reihe von Gründen, die es uns zum mindesten nahelegen, nicht bei dem Mindestmafs der Verdünnung (dem 15fachen) stehen zu bleiben, das man zuerst aufgestellt hat.

Verdünnung und Geschwindigkeit allein entscheiden nicht allein über den Zustand des verunreinigten Wassers. Ein nicht zu unterschätzender Faktor ist die Temperatur des Wassers.

Bei einem Gebirgsflufs, der auch im Hochsommer nur 13 bis 15° C erreicht, da er Schneeschmelzwasser führt und einem Niederungsflufs mit 25—26°, der gerade im Sommer wenig Wasser führt, sind denn doch wesentliche Unterschiede vorhanden. Sind die Ufer reguliert oder nicht reguliert, so machen sich Differenzen insofern geltend, als im letzten Fall bei stellenweiser Stagnation des Wassers noch bei einer Verdünnung von 1:50 in Altwasserbecken oder ähnlichen stilleren Teilen des Wassers die oxydative Spaltung nicht mehr mit Sicherheit — nach den Versuchen meines Laboratoriums zu erwarten ist. Auch wird Fauna und Flora solcher ruhender Wasseranteile sehr bemerkbar sich ändern können.

Es wird sich wohl das Bedürfnis geltend machen, durch möglichst genaue Untersuchung bestehender Sielwassereinleitungen und ihrer Wirkung auf die Flüsse zu bestimmten formulierten Ergebnissen zu kommen, als es bis jetzt trotz der Zahl einschlägiger Analysen geschehen ist.

So kann durch systematischen Ausbau und Fortführung der Experimente eine schärfere, innerlich geklärtere Formulierung unserer Forderungen angebahnt werden, welche sich nach der Richtung bewegen wird, dafs man günstigstenfalls eine gröfsere Verdünnung als sie bisher in minimo gewählt wurde, wird zugrunde legen müssen.

Es hinterbleibt dann immer noch ein gewisser Grad bakterieller Verunreinigung als die Folge auch solcher Einleitung.

Wenn man aber, wie es richtig ist, den Gebrauch des Flufswassers als Trinkwasser perhorresziert, so ist anderseits doch auch ganz und gar kein Grund vorhanden, nunmehr vollständig auf einen gewissen Grad der bakteriellen Reinheit des Wassers zu verzichten und die verunreinigten Wegstrecken immer länger werden zu lassen.

Der Verdünnungsgrad der Bakterien des Wassers soll auch dort, wo es von den Anliegern für öffentliche, menschliche Trink- und Nutzzwecke nicht beansprucht wird, als ein Faktor von Bedeutung angesehen werden, man soll wenigstens die Wahrscheinlichkeit einer Ansteckungsgefahr soweit herabsetzen, dafs bei gelegentlich wenn auch ausnahmsweisem Gebrauch durch eine Schiffsbevölkerung etc., der doch nicht aus der Welt zu schaffen sein wird, nicht in jedem Falle ernste Bedenken wegen Ansteckungsgefahr geltend gemacht werden müssen.

Das so häufig in den Vordergrund gestellte Moment der lokalen Interessen darf, insoweit es zeitlich variable Momente betrifft, nicht allein ausschlaggebend sein. Die Wünsche der Anlieger eines Flusses sind nicht immer allein mafsgebend, um den zu erfordernden Reinheitsgrad zu bestimmen. Die öffentliche Gesundheitspflege und der Staat hat auch die Zukunft des Landes im Auge zu behalten und eine zielbewufste Flufswasserpolitik zu treiben.

II.

Ganz in engem Zusammenhang mit den Anschauungen und mit dem Begriff Flufsverunreinigung stehen die praktischen Mafsnahmen zur Reinigung der Abwässer. Ihre Ausbildung und Anwendung ist sehr von den theoretischen Vorstellungen an die Ansprüche eines »reinen« Flufswassers beherrscht gewesen.

Wenn mit der Verbesserung der Abwässer vor der Einleitung ein Anfang gemacht werden soll, ist es das richtigste, zuerst an die Beseitigung der suspendierten Teile zu gehen, weil man mit ihnen die Hauptmasse der optisch wie ästhetisch störenden und sanitär nachteiligsten Bestandteile aus dem Sielwasser wegnimmt. Übelstände durch klare, städtische Abwässer werden nur in seltenen Fällen zur Beobachtung kommen. Das Suspendierte ist der

bakterienreichste Teil des Abwassers, wenn auch die einfache Auszählung der Bakterien diesen Schlufs nicht ergibt. Ich habe schon an anderer Stelle Versuche mitteilen lassen, dafs man aus dem Sediment durch allmähliche, wiederholte Suspension in sterilem Wasser immer neue Bakterienmengen herausholen kann, die sonst der Untersuchung entgehen. Suspendierte Teile sind die Stellen, an denen Bakterien, unbeschadet einer Verdünnung des Sielwassers, einen gleichbleibenden konzentrierten Nährboden finden.

Das Suspendierte ist die Quelle der Bodenverschmutzung im Flufs, bietet immer die Gefahr, dafs diese Ablagerungen bei stärkerem Strom weitergetragen werden und in Örtlichkeiten erscheinen, wo man wegen der bei ruhigem Strom festgestellten weit kürzeren Verschmutzungsgrenze des Flusses an Verschleppungen von Abfallstoffen gar nicht denkt.

Die Sedimentierung ist, wie bekannt, bei völliger Ruhe eine weitgehende Reinigungsmethode. Wie Grether gezeigt hat (a. a. O. S. 193), erreichen wir bei Berliner Sielwasser in der vierten Stunde schon das Maximum. Leitet man solches gereinigtes Wasser unter denselben Bedingungen in einen Flufs wie das ungereinigte (Verdünnung 1 : 15) so hat sich im Laboratoriumsexperiment im Spezialfall ergeben:

	1 ccm enthält Keime	1000 ccm enthalten Gramm		
		Gesamt-trockensubst.	organ. Glühverl	anorgan. Substanz
Ungereinigtes Wasser .	453 000	0,405	0.245	0,160
Geklärtes Wasser . .	294 000	0,070	0,036	0,034.

Der Einflufs der Klärung auf die chemische Beschaffenheit des Wassers war sehr bedeutend, geringer hinsichtlich des Bakteriengehalts, aber dies ist eine Täuschung, weil tatsächlich das ungereinigte Wasser viel mehr Bakterien enthält, als die Plattenzählung ergibt.

Von den bakteriellen Verunreinigungen abgesehen, würde man ein mehrfaches an »gereinigtem« Abwasser in den Flufs lassen können, wie von ungereinigtem Kanalwasser, wenn man nur gleiche chemische Verdünnungen des Wassers in beiden Fällen für zulässig erklärt.

Trotz der Einfachheit des Verfahrens haben die Sedimentierungsverfahren spät Einzug gefunden, weil man von dem Gedanken sich nicht losmachen konnte, es sollten vor allem die Bakterien möglichst vollkommen ausgefällt werden, und weil man in praxi bei der Sedimentierung einen etwas geringeren Nutzeffekt erzielt als bei Laboratoriumsexperimenten und diesen Nutzeffekt erhöhen wollte.

So sind die Kalkreinigung mit ihren Modifikationen, die Eisenfällung, das Kohlebreiverfahren in Aufnahme gekommen und zahlreiche Städte haben angefangen, damit ihre Abwässer zu reinigen und tun es noch.

Die chemischen Kläranlagen haben im allgemeinen nicht sehr befriedigende Resultate gegeben, wenn man von Spezialfällen absieht. Die einfache Kalkklärung war in jeder Form eine ziemliche Belastung der Städte und hat, was die Reinheit der Abwässer anlangte, wenig erreicht. Die grofse Menge von Niederschlägen war gar nicht zu verwerten. Wir haben auch Beispiele, wo trotz Kalkklärung die Flufsreinheit nicht weniger als tadellos gewesen ist. Selbst bei der hinsichtlich der Niederschläge immerhin noch günstigen Eisenfällung (z. B. in Leipzig), sieht man sich in neuester Zeit genötigt, auf ein Verfahren überzugehen, das die Menge der unverwertbaren Niederschläge vermindert und die Reinheit des geklärten Wassers erhöht.

Die bakterielle Reinerhaltung des Flufswassers wurde wohl in keinem Falle erreicht.

Das Radikalste ist, was die Niederschläge anlangt, noch die bei dem Degenerschen Kohlebreiverfahren gegebene Möglichkeit das Sediment des Kanalwassers zu trocknen und durch Verbrennen unschädlich zu machen.

Sieht man von der unseligen Schlammverwertungsfrage ganz ab, so kommt aber noch ein anderes Moment bei Kläranlagen in Frage.

Wie längst im Detail schon nachgewiesen und leicht verständlich ist, ist die vollkommene Beseitigung der suspendierten Stoffe bei dem chemischen Verfahren gegenüber einfacher Klärung nicht eben sehr hoch anzuschlagen, gelöste Stoffe aber werden nur in

beschränktestem Mafse angegriffen. Sterilität der Abwässer ist längst preisgegeben und wurde natürlich niemals erzielt.

Man wird auch nicht wohl behaupten wollen, dafs durch die fehlende Sterilität oder Keimarmut derartigen eingeleiteten Abwassers bei grofsen Flüssen ein ernstlicher Übelstand sich ausgebildet habe.

Die gereinigten Abwässer können aber immer noch unser Interesse beanspruchen, da sie trotz dieses Namens zweifellos vom sanitären Standpunkt nicht den Grad von Unschädlichkeit aufweisen, den man gemeinhin voraussetzt. Sie verdienen Beachtung dort, wo die zur Verdünnung nötigen Wassermengen nur mäfsige sind. Diese Frage möchte ich im nachstehenden noch etwas näher besprechen.

Die chemisch gereinigten Abwässer enthalten immer noch viel fäulnisfähiges Material und geben dort, wo sie unverdünnt längere Wegstrecken geleitet werden müssen, zu Klagen wegen Fäulnis Veranlassung.

Derartige Fälle haben sich in der neueren Zeit, wie es scheint, vermehrt. Nicht allein liegt der Grund in den prinzipiellen Mängeln der Methode, als vielmehr in dem nicht seltenen Versagen des Klärvorgangs durch ungenügende Handhabung der Klärmittel und aus anderen Gründen.

Weit bessere Ergebnisse haben bekanntlich die biologischen Kläranlagen, welche nach den Rieselfeldern, wenigstens was Wasserbeschaffenheit anlangt, die besten Resultate aufweisen.

Nur läfst die technische Durchführung auch manches zu wünschen übrig, so dafs Versager nicht eben ganz selten vorkommen.

Die Verschmutzung von wasserarmen Bächen und kleinen Flüssen durch mangelhaft gereinigte Abwässer ist wohl unbestritten.

Ich habe auch Grund zur Annahme, dafs die Einleitung namentlich chemisch geklärter Abwässer auch bei nicht allzu wasserarmen Flüssen allmählich zu einer Zunahme der Bakterienzahl Veranlassung gibt, die zunächst freilich nur auf Saprophyten zu beziehen ist, aber doch den Beweis liefert, dafs viel nährendes

Material vorhanden ist, was gegebenenfalls auch bei der Ausstreuung von Parasiten als bedenklich angesehen werden kann.

Diese übermäfsige Einleitung geklärter Abwässer kann eine Kalamität werden, sie vollzieht sich langsam und unbemerkt, weil keine Fällungen und Sedimente auftreten, aber schliefslich kann doch eine erhebliche Flufsstrecke in Mitleidenschaft gezogen werden.

Die Überwachung der Betriebsergebnisse von Kläranlagen ist noch in den Anfängen; sie ist aber dringend nötig. Die Methoden zur Prüfung sind hauptsächlich mit Rücksicht auf das Studium des Betriebes von biologischen Anlagen ausgedacht, noch in den Versuchsstadien. Ich will mich in eine nähere Besprechung derselben hier nicht einlassen. Im grofsen und ganzen ist man zu einer Prüfung der »Faulfähigkeit« des Wassers zurückgekehrt, d. h. zu der Feststellung, ob ein Wasser, längere Zeit aufbewahrt, noch die Zeichen der Fäulnis gäbe; hat aber bei den schwankenden Ergebnissen solcher Prüfung versucht, noch andere Kriterien heranzuziehen.[1])

Fäulnis ist ein ziemlich vager Begriff; praktisch versteht man darunter Einwirkung und Wachstum von Kleinlebewesen unter Bildung von stinkenden Zersetzungsprodukten, worunter namentlich S-haltige Produkte und Spaltstücke von eiweifsartigen Stoffen oder diesen nahestehenden Körpern gemeint sind.

Jedenfalls ist sie eine Funktion

1. der Gröfse des Sauerstoffzutritts,
2. der Gröfse der Verdünnung der Nährstoffe (s. o.),
3. der Art der Keime,
4. der Art der Nährstoffe, es müssen komplexe Verbindungen vorhanden sein.

1 und 2 entscheiden in der Praxis des täglichen Lebens über die Wahrnehmbarkeit der Fäulnis. Ein grofser Teil der in natürlichen Verhältnissen vorkommenden Keime spaltet SH_2 ab

1) Siehe z. B. die Zusammenstellung bei Spitta und Weldert, Mitteilungen der Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung u. Abwässerbeseitigung. 1906. Heft 6, S. 7.

und bildet aus Eiweifs, Polypeptiden, Aminosäuren und Diaminosäuren NH_3 und stinkende Produkte (niedere Fettsäuren, Indol).

Doch sind hier nicht allein Qualitätsfragen, auch vor allem Quantitätsfragen zu entscheiden. Es ist naheliegend, andere als die bisher begangenen Wege einzuschlagen.

III.

Aber abgesehen von dieser Frage des Nachweises der Fäulnis und ihrer Kontrolle haben wir zurzeit auch von den schon lange als Reinigungsverfahren verwandten technischen Einrichtungen überhaupt noch zu wenig Unterlagen über den Grad der Unreinheit, mit dem die gereinigten Abwässer solche Kläranstalten verlassen.

Es war mir daher erwünscht, in anderer Weise als es bisher geschehen ist, aus eigner Erfahrung und wie es die Praxis des täglichen Lebens bot, näheres über die Beschaffenheit der Rohwässer und Reinwässer solcher Kläranstalten zu erfahren.

Die Versuche beziehen sich auf vier Anlagen mit chemischer Reinigung und drei Anlagen mit biologischem Klärverfahren.

Herr Dr. Hutcheson aus Schottland hatte 1903/04 die Aufgabe unternommen die Angelegenheit näher zu prüfen; auf Grund seiner Versuchsprotokolle will ich im nachstehenden eine kurze Schilderung der einschlägigen Verhältnisse geben.

Die Beurteilung von Abwässern durch die übliche Methode der Analyse ist nicht leicht, die Resultate geben zu mancherlei Zweifel Anlafs. Neben Trocken- und Aschegehalt wird meist die organische Substanz mittels der Permanganatmethode geprüft, allenfalls auch der N-Gehalt nach Kjeldahl und das Albuminoidammoniak. Die Methoden sind zum Teil anerkannt ungenau, wie die Permanganatmethoden, und um so unverwendbarer, als sich durch die Reinigungsmethoden nicht alle Schmutzbestandteile gleichmäfsig in Rohwasser und Reinwasser geändert haben, sondern Rohwasser und Reinwasser spezifische Unterschiede aufweisen.

Der Stand dieses Wissens schien es mir zu rechtfertigen, einen Versuch der Analyse in gröfserem Umfang wiederholen zu lassen,

den ich vor einigen Jahren gemacht habe, nämlich die Bestimmung der organischen Substanz nach ihrer Verbrennungswärme.

Die Untersuchung sollte einen Überblick über den Grad der Reinigung der Abwässer im allgemeinen geben. Es war nicht möglich und auch gar nicht erstrebt, längere Reihen auszuführen, man mufs ja auch bei solchen mit Unsicherheiten rechnen. Es sollte sich nur darum handeln, die Stoffe, insoweit sie abgebaut sind oder nicht möglichst gut zu charakterisieren.

Dies kann dadurch erreicht werden, dafs man den N-Gehalt des Roh- und Reinwasser mitbestimmt. N-haltig sind die Nährstoffe, welche zum Aufbau der Bakterien dienen, sie sind auch die Grundlage für die Fäulnisfähigkeit. Die N-Bestimmung wurde nach Kjeldahl ausgeführt. Sie wird von der Anwesenheit der Nitrate und Nitrite unter Umständen sehr gestört. Es ist daher notwendig, um den Gesamtstickstoff aufzufinden, gewisse Modifikationen der Kjeldahlschen Methode anzuwenden, jene nach Förster oder jene nach Jodlbauer. Zur Kontrolle wurde der N nach Kjeldahl in 25 ccm Kaliumnitrat = 0,0064 g N bestimmt und erhalten:

a) nach Förster	b) nach Jodlbauer
0,00672	0,00532
0,00672	0,00532
0,00672	0,00532
0,00728	0,00532.
0,00700	
0,00671	

Die Zahlen nach Förster fielen demnach etwas zu hoch, jene nach Jodlbauer zu klein aus; wir entschieden uns wegen der Gleichartigkeit der Resultate für die letztere Methode.

Selbstredend mufste in den Fällen, wo Trockensubstanz verwandt wurde, unter Säurezusatz eingedampft und konzentriert werden; es wurde Oxalsäure benutzt.

Sollte man das Bedürfnis fühlen, den organisch gebundenen N für sich zu bestimmen, so empfiehlt sich die Feststellung des Albuminoidammoniaks durchaus nicht, sondern die Kombination der Kjeldahlmethode mit der direkten Bestimmung des Am-

moniaks. Ich habe gesehen, dafs sich auf diesem Wege vortreffliche einwandfreie Resultate erzielen lassen.

Die Verbrennungswärme gibt einheitlich, einwandfrei alle organischen Stoffe zusammengenommen an. Die Ausführung der Methode darf aber nicht schablonenhaft zur Anwendung kommen. Die Substanzen der Abwässer verbrennen selten ohne weiteres glatt. Hier hindert der grofse Aschegehalt. Es müssen also erhebliche Zuckerzusätze gemacht werden.

Schwierigkeiten hatte die Berthelotsche Methode aber auch dann zu überwinden; in einigen Fällen, bei welchen das biologische Klärverfahren angewendet worden war und sehr reines Wasser vorlag, hinterblieb nach dem Eintrocknen eine Mischung, welche zwar noch etwas verbrennlichen Kohlenstoff enthielt, wovon ich mich überzeugte, aber im Kalorimeter nicht zu einer glatten Verbrennung zu bringen war.

Da es sich nur um kleinste Mengen verbrennlicher Materie handelte, so kommt dieser Übelstand für die weiteren Betrachtungen nicht sehr in Frage.

Bei reichlichem Gehalt an Salpeter und salpetrigsauren Salzen darf nur in neutraler Reaktion abgedampft werden. Man nimmt nur soviel Oxalsäure, als hierzu nötig erscheint. Verdampft man reichlich Oxalsäure mit reichlichen Mengen von salpetrigsaurem Kali, so entweichen Dämpfe von salpetriger Säure.

1,0173 g Oxalsäure = 0,7263 wasserfrei
+ 0,5758 KNO_2
= 1,3021
geben 1,1278 g.

Ähnlich bei Anwendung von KNO_3

1,1545 g Oxalsäure = 0,8243 wasserfrei
+ 0,6105 KNO_3
= 1,4348
geben 1,094 g Rückstand,

auch hierbei entweichen Dämpfe von NO_2.

Die Feststellung der Trockensubstanz geschah bei 98 bis 100°, die der Asche in üblicher Methode. Beide Verfahren

bieten bekanntlich schon bei den Trinkwässern viele Fehlerquellen, noch mehr Bedenken liegen bei ihrer Benutzung für Abwässer vor. Sie geben nur Annäherungen und führen, wie in stark nitrat- und nitrithaltigen Substanzen, zu unsicheren Ergebnissen.

Zur Charakterisierung der organischen Substanzen mufs man daher einen andern Weg einschlagen.

Dies gelingt in folgender Weise:

Kennt man den N-Gehalt und die Verbrennungswärme der organischen Substanz, so gewinnt man durch die Relationen zwischen N und Cal. einen weiteren Einblick in die Natur der vorliegenden Gemische, denn, Stoffe, wie sie im Harn enthalten sind, zeigen, wie ich zuerst bewiesen habe, eine Relation von $\frac{\text{Cal}}{\text{N}} = 5 - 8$, Eiweifskörper geben $\frac{\text{Cal}}{\text{N}} = 34$, Kot $1 = 70$, Werte darüber hinaus lassen auf die Anwesenheit von Fett, Stärke, Zellulose schliefsen. Es wäre auch nicht schwierig, durch Kombination mit der Extraktion des Fettes noch einen Schritt weiter zu kommen.

Die Chloride wurden mit Silberlösung titriert sowohl im ganzen Gemische als im Filtrat eines Chamberlandfilters. Die suspendierten Substanzen enthalten kleine Mengen von Chloriden.

Ich schicke den analytischen Resultaten einige kurze Bemerkungen über die Abwässer voraus.

P. betrifft eine Entwässerungsanlage für 2000 bis 3000 Personen, welche zugleich die Abgänge eines Schlachthofs aufnimmt. Geklärt wird mit Kalkmilch. Das Wasser war trübe, schwärzlich grau und faulig.

Das gereinigte Wasser gelb, riecht nach Trimethylamin; enthält feine Schwebestoffe, ist stark alkalisch.

R. Anlage für 18000 Personen, reichliche Abwässer aus Schweineställen und Pferdeställen, das Wasser stinkend u. faul.

Chemische Klärung nachträglich Sand- und Kohlefiltration. Gereinigtes Wasser gelb, geruchlos, stark alkalisch.

T. Anlage für 12000 Personen, Abgänge von Fabriken, Kohlebreiverfahren. Gereinigtes Wasser schwach gelb, etwas trübe.

O. kleiner Ort, wie T.

Gr. kleine biologische Anlage für 200 Personen. Wasser schmutzig, schwärzlich grau, faulig. Gereinigtes völlig klar, farb- und geruchlos.

L. Anlage eines kleinen Ortes, für mehrere tausend Personen, wie Gr.

W. mittlere Stadt, neue biologische Anlage. Das Wasser wird nach der Klärung noch gerieselt. Die Analysen geben die Ergebnisse des gerieselten Wassers.

P, R, T, O betreffen demnach chemisch klärende Anlagen **G, L, W** biologische Verfahren.

Nachstehende Tabelle enthält die Analysen der Trockensubstanzen.

Die Trockensubstanz enthält:

	Aschegehalt in %	Verbrenn.-Wärme pro 1 g	N-Gehalt in %	Aschegehalt in %	Verbrenn.-Wärme pro 1 g	N-Gehalt in %	
		ungereinigt			gereinigt		
P.	39,2	4,271	12,3	69,4	1,030	2,00	chem. Klärung
R.	38,2	4,217	3,61	85,2	0,414	1,50	
T.	45,0	3,213	2,54	62,1	1,040	4,65	
O.	47,0	2,134	3,12	56,8	0,840	3,82	
G.	54,8	2,113	1,85	68,0	sehr klein	2,68	biolog. Reinigung
L.	67,6	1,138	3,82	71,0	sehr klein	6,48	
W.	45,8	4,485	13,56	80,4	0,440	0,87	

Aus ihnen sind noch keine weitgehenden Schlüsse zu ziehen; nur einer ist generell und gesetzmäfsig hervortretend: Die Zunahme des Aschegehalts der gereinigten Wässer. Im übrigen werden die einfacheren Beziehungen ganz verdeckt durch den wechselnden Aschegehalt; ich berechne daher die Werte auf aschefreie, organische Substanz.

Berechnet auf organische Trockensubstanz.

	1 g kg-Kal.	% N	N : Kal.	1 g kg-Kal.	% N	N : Kal.
		ungereinigt			gereinigt	
P.	7,024	20,23	35	3,333	6,53	51
R.	6,823	5,84	117	2,800	10,11	28
T.	5,836	4,62	126	2,744	12,5	22
O.	4,026	5,86	69	1,944	8,84	22
Mittel	5,927	9,14	87	2,705	9,50	39
Gr.	4,674	4,09	114	—	(8,37)	—
L.	3,523	11,83	21	—	(22,35)	—
W.	8,275	25,0	33	2,245	4,53	49
Mittel	5,494	13,64	56	0,748	12,42	16

Betrachten wir zuerst die Rohwässer.

Der Verbrennungswert der organischen Substanz dieser sieben Abwässer ist wechselnd, was bei der Verschiedenheit der Orte und Anlagen, denen sie entstammen, kaum auffallend erscheint.

Doch sind durch Zufall in beiden Gruppen von Rohwässern sehr ähnliche Mittelzahlen erhalten worden: 5,927, 5,494 Cal., was die Vergleichbarkeit der Resultate gewährleistet.

Eine Kläranlage, die nur zu Versuchen diente, »L.«, hatte zeitweise als Rohwasser einen Zulauf, der überhaupt nur wenig verunreinigt schien und daher auch ein Abwasser lieferte, das klar und rein wie ein Trinkwasser war. Diese Proben sind nicht mitverwertet. Es führte dabei nach einer Analyse bei 32,2 % Asche und 1,34 % N der Trockensubstanz nur 0,942 kg Kal. pro 1 g Substanz, im gereinigten Wasser 31,1 % Asche und 0,25 % N, und Spuren verbrennliche Substanz.

Aufserordentlich schwankend ist der N-Gehalt der organischen Substanz der Rohwässer gewesen. Ein Vergleich des Sielwassers von Grofsstädten wird nicht im entferntesten solche Unterschiede ergeben, wie diese bei den kleinen Gemeinden: 4,1 % bis 25 %. In einem Falle bei 20 % N-Gehalt war sehr viel von Ammoniaksalzen vorhanden. Das Rohwasser zeigte aber

einen Grad der Zersetzung, wie er nach meinen Erfahrungen im Sielwasser Berlins z. B. gar nicht vorkommt.

In dieser Hinsicht spielt die Beimengung von Harn natürlich die gröfste Rolle; auch wohl eiweifshaltige Stoffe (Schlachthöfe) und Harn wie z. B. bei P. Warum W. soviel N in den Abwässern zeigt, läfst sich nicht eruieren.

Oxydierter N war in den Rohwässern wenig vorhanden, dies zeigten auch die geringen Unterschiede in der Analyse des N zwischen der einfachen N-Bestimmung nach Kjeldahl und nach Jodlbauer.

Das Verhältnis von N : Cal ergibt grofse Schwankungen zwischen 1:21 bis 1 : 126. Hierfür kommt vor allem die Beimengung von Kot, wohl auch von N-armen aber kohlestoffreichen Fabrikwässern in Betracht. Berliner Kanalwasser gab nach meinen Untersuchungen (Archiv. f. Hyg., XLVI, p. 35):

	$\frac{Cal}{N}$
Probe I . .	109
Probe II . .	86

	für die suspendierten Teile	für die gelösten
I	125	50
II	112	50.

Die höheren Werte R, T, Gr, kommen dem Berliner Wasser sehr nahe, die anderen nähern sich den Werten für Wasser mit wenig suspendierten Bestandteilen und sinken noch unter die angegebenen Werte für das Berliner Wasser. Die Suspensa hängen von menschlichen Abgängen, namentlich auch vom Kot der Tiere mit ab. Bei P. ist viel Blut im Abwasser vorhanden.

Daraus folgt, dafs man bei weiterer Vornahme solcher Experimente am besten eine getrennte Untersuchung von Suspendiertem und Gelöstem ausführen sollte.

Was nunmehr die gereinigten Abwässer anlangt, so ist im voraus zu bemerken, dafs die Abgänge der chemischen

Kläranstalten überhaupt keineswegs immer klare Wässer liefern, sondern häufig noch mehr oder minder trübe.

Bei den Abwässern müssen wir jene der chemischen und der biologischen Reinigungsverfahren streng auseinanderhalten.

Bei ersten ist nur bei P. der N-Gehalt des Abwassers kleiner wie jener des Rohwassers, sonst wesentlich gröfser. Kot, Speisereste, Suspendiertes verschiedenster Art, das reich an verbrennlichem Kohlenstoff ist, wird, wie ich gezeigt habe, zuerst gefällt. Diese Stoffe müssen bei P. sehr N-reich gewesen sein (Fleischfasern vom Schlachthof?). Das Verhältnis im gereinigten Wasser sinkt auf 1 N : 31 Kal., bleibt kleiner als bei den löslichen Substanzen des Berliner Sielwassers, weil durch das Klärverfahren auch noch zum mindesten lösliche Teile der Fäces von Menschen und Tieren mit ausgefällt werden. Sonach würde diese Klärung eine geringe Verbesserung des Abwassers auch qualitativ gegenüber den einfachen Sedimentierungsverfahren bedeuten.

Die Verbrennungswärme der gereinigten Wässer ist kleiner als die der organischen Substanz des Rohwassers. Dies ist in allen Versuchen der Fall gewesen. Bei den chemisch gereinigten Abwässern sinkt der Brennwert der organischen Substanz auf mehr als die Hälfte.

Auch dies beweist und erhärtet die aus dem Quotienten $\frac{Cal}{N}$ gezogenen Schlüsse; der chemische Charakter des »Reinwassergemisches« ist ganz anderes wie jener des Rohwassers.

Die organische Substanz hat zwischen 1,944—3,333 kg Kal. Verbrennungswärme. 1 g Harnstoff liefert 2,523, verschiedene Harne bis 3,101; noch weniger Verbrennungswert als Harnstoff hat das in faulen Abwässern reichlich enthaltene kohlensaure Ammoniak.

Vor allem mufs man aber bedenken, dafs in diesen Fällen bei Abwässern die Bestimmung der organischen Substanz mit grofsen Ungenauigkeiten verknüpft ist.

Trotz des niedrigen Wertes für die Verbrennungswärme der organischen Substanz müssen tatsächlich Körper, die noch zu

den Endstufen des Harns keineswegs abgebaut waren, vorhanden gewesen sein. Denn bei Harn erhalten wir nur Relationen von N : Cal wie 1 : 5 — 1 : 12 (Kinderharn). Hier bei der chemischen Klärung, wie schon angeführt, 1 : 22—28 für normale Kanalreinwässer.

Die Aschebestimmung wie Trockenbestimmung haben ebenfalls erhebliche Fehlerquellen. Häufig geht bei der Trockenbestimmung der Verlust zu weit, wenn man bei hoher Temperatur und lange Zeit trocknet. Wir haben deshalb bei 98°—100° die Trocknung vorgenommen. Bei der Veraschung hat man alle Fehler, welche bei der Wasseranalyse oft genug besprochen worden sind, zu erwarten. Vor allem mehrt die Anwesenheit von Ammoniaksalzen die »organische Substanz«.

Es ist daher richtiger und einfacher bei den Schlüssen, sich an die Relationen zwischen N und Cal, die von all diesen Fehlern frei sind, zu halten.

Wende ich mich nunmehr zu den biologisch geklärten Abwässern, so kann hier der Versuch W ausscheiden. Diese Kläranlage lieferte nach dem Koksfilter ziemlich unbefriedigendes Wasser; es wurde daher noch gerieselt. Aber auch diese Prozedur giebt noch ein Wasser, das nichts vor einer chemischen Reinigung voraus hat.

Gr. und L. gaben bei der Verbrennung nach Berthelot keine sicheren Ergebnisse. Aber so viel ist gewifs, dafs nur mehr kleinste Mengen verbrennlicher Substanz vorhanden waren; bei Veraschung zeigte sich auch nur eine unbeträchtliche Kohlebildung. Ich beabsichtige diese Untersuchung von biologisch geklärten Abwässern nach der Richtung der Gründe, welche ein Versagen der Verbrennung ergeben, weiter zu verfolgen.

Auch die Aschebestimmung bzw. Bestimmung der organischen Substanz ist in diesen Fällen, wo fast nur Nitrate und Nitrite neben einigen anderen Salzen gefunden werden, ein problematisches Unternehmen. Je mehr Nitrite vorhanden sind, um so fehlerhafter wird das prozentuale Ergebnis. Wir können daher auf die Prozentzahlen keinen Wert legen.

Aus der Tatsache, dafs die bei chemischer Klärung gefundenen Stoffe bei biologischer Klärung vollkommen abgebaut werden (wie dies übrigens schon längst als Wirkung der Selbstreinigung des Bodens erkannt war), folgert ohne weiteres, dafs die chemisch geklärten Abwässer als Nährstoffe für Bakterien zu betrachten sind und zwar nahezu in vollem Umfange der ganzen organischen Substanz.

Die methodische Prüfung gibt uns, wie wir gesehen haben wird, einen genauen Aufschlufs über die Wichtigkeit der beiden prinzipiellen Reinigungsmethoden des Abwassers. Wenn man auch immerhin die chemische Klärung nicht ganz zur Seite legen kann, zeigt sich doch die grofse Überlegenheit auf Seite der biologischen Klärung.

Ich hatte nicht die Absicht, die gesamten quantitativen Leistungen der beiden Abwasserreinigungsmethoden messen zu lassen; dazu sind sehr lange Reihen nötig, aber man kann doch an dem Vergleich der Konzentrationen des frischen Rohwassers und des gereinigten, auch aus diesen Experimenten Schlüsse ziehen.

Ich gebe daher im nachstehenden eine Zusammenstellung der Ergebnisse Dr. Hutchesons auf 1 cbm Abwasser berechnet.

1 cbm lieferte:

Anlage	Ungereinigt					Gereinigt				
	Trockensubstanz	Chlor	N Kjeldahl	N Jodlbauer	kg-Kal.	Trockensubstanz	Chlor	N Kjeldahl	N Jodlbauer	kg-Kal.
P.	1847,5	188,5	226,0	228,7	7 891	2131,0	217,5	43,7	44,1	2196
R.	5675,0	424,5	201,1	205,3	23 929	1152,5	225,0	14,4	17,4	478
T.	1432,5	142,0	39,5	39,6	4 603	1116,5	191,5	49,9	51,9	1162
O.	2735,0	124,0	85,6	85,6	5 877	1426,2	108,2	41,2	54,7	637
Mittel	2922,5	219,7	137,6	139,8	10575	1456,5	185,5	37,3	42,0	1118
Gr.	892,5	62,5	16,3	16,6	1 886	917,5	59,5	2,4	24,0	—
L.	1115,0	106,7	52,6	52,1	815	933,5	99,3	0,13	7,1	—
W.	2418,8	396,4	371,5	372,5	12 306	1595,0	348,5	13,5	13,1	703
Mittel	1475,4	188,5	146,8	197,1	5 002	1148,6	169,1	8,6	14,7	234

Die Tabelle führt Trockensubstanz, Chlor, N und Verbrennungswerte für Rohwasser und Reinwasser pro 1 cbm auf. Roh- und Reinwasser decken sich praktisch im Volumen nicht ganz — aber wenn man kleine Unrichtigkeiten bei Seite läfst, kann man annehmen, dafs eine Volumänderung nicht eintrete.

Der Reinigungseffekt für den N ist bei dem chemischen Verfahren immerhin erheblich — bei dem biologischen aber sozusagen vollkommen.

Der Reinigungserfolg nach der Verbrennungswärme kenntlich ist bei dem biologischen Verfahren, das fast eine völlige Mineralisierung erreicht, ein aufserordentlicher. Auch die chemischen Methoden haben ihre gute Seite und reduzieren die organische Masse sehr erheblich, hinterlassen aber immer noch einen recht respektablen Rest.

Der Reinigungseffekt der chemischen Methode bewegt sich um den Mittelwert 1118 kg Kal. pro 1 cbm ziemlich unabhängig von der Beschaffenheit des Rohwassers, solches Wasser ist noch reich an zersetzbarem Stoffe.

Im Laboratoriumsversuch habe ich bei Berliner Sielwasser im günstigsten Falle durch Beseitigung alles Suspendierten

75,8 % des N und 88,7 %

des Verbrennlichen beseitigt.

Bei den oben von Dr. Hutcheson untersuchten Kläranlagen wurde im Mittel:

vom N: 37,8 % und vom Verbrennlichen 95,3 % entfernt,

das stimmt genügend mit der allgemeinen Annahme, dafs die chemische Klärung hauptsächlich nur die suspendierten Teile ausscheidet.

Die biologische Klärung nimmt den Rest der organischen Substanz weg und mineralisiert den N. — Man vergleiche diesbezüglich auch die Differenz zwischen den Ergebnissen der Kjeldahlmethode und nach Jodlbauer bei Versuch Gr. und L.

Ich glaube hiermit den Beweis erbracht zu haben, dafs es uns nicht an Mitteln fehlt, die in den Abwässern auftretenden

Substanzen genauer zu definieren als es bisher der Fall gewesen ist.

Aus den Ergebnissen folgt, dafs der Ableitung chemisch geklärter Abwässer mehr Aufmerksamkeit zugewendet werden sollte, und dafs man sie nicht in beliebiger Masse einem Flufswasser beimengen sollte. Schlammbildner sind sie allerdings nicht (von der Kalkklärung abgesehen), aber es sind reichlich Körper vorhanden, welche für Mikroorganismen als Nahrungsstoffe gelten können.

Gewifs sind sedimentführende Abwässer nach jeder Richtung hin die Ursache gröfserer und grober Mifsstände und Gefahren als die geklärten.

Welche Veränderungen ein Flufs nach Einleitung dieser Abwässer erfährt, läfst sich nicht aus dem Verhalten des geklärten Wassers allein entnehmen, weshalb auch die Bestimmung der Faulfähigkeit nur bedingten Wert im Hinblick auf die hier besprochene Flufsverunreinigung haben wird.

Im Flusse selbst liegen ja auch Nährwerte vor, welche möglicherweise latent bleiben, aber sich äufsern, wenn durch ein Abwasser noch weitere Bestandteile dazu kommen.

Wie ein Abwasser auf einen Flufs wirkt, läfst sich nur lokal entscheiden mit Rücksicht auf die Nährwerte des Flusses, die Art der Bakterienflora, seine Wasserführung, Geschwindigkeit und Profilform. Besonders dann, wenn es sich um langsam fliefsendes Wasser des Tieflandes, um Seen und Teiche als Vorfluter handelt, ist die vorliegende Frage von besonderer Bedeutung.

Die Flufsverunreinigung kann dann auch andere Formen und einen andern Charakter annehmen. Greift man im Begriff Flufsverunreinigung weiter, so kann man auch die zu starke Entwicklung von Plankton pflanzlicher Natur und die Verkrautung durch höhere Pflanzen hierher rechnen und die Begünstigung der Bildung von Leptomitus lacteus u. dgl. in diese Betrachtung hineinziehen.

Im Hinblick hierauf könnten dann auch Rieselwässer und die Abwässer aus biologischen Kläranstalten Beachtung ver-

dienen, da sie reich an Nitraten und Nitriten und Salzen sind, welche eine günstige Pflanzennahrung geben.

1 cbm Abwasser, gereinigt auf chemischem Wege, bringt noch 994 g Salze pro cbm in den Flufs, 1 cbm biologisch gereinigt (Gr. und L. der Tabelle S. 79) (925,5 g × 59,5 % Asche) noch 550,6 g.

Bisher fehlte es auch an analytischen Methoden, derartige Verunreinigungen in Flüssen, namentlich bei einigermafsen weitergehende Verdünnungen, aufzufinden. Auch diese Lücke ist heute vollkommen ausgefüllt. In einer der nachfolgenden Arbeiten werde ich zeigen, dafs eine von mir angegebene kolorimetrische N-Bestimmung auch den höchsten Anforderungen entspricht und quantitative Messungen der Flufsverunreinigungen erlaubt, die bisher ausgeschlossen schienen.

Elementaranalytische Bestimmung des Stickstoffs im Wasser.

Von

Max Rubner.

Der in organischer Bindung vorhandene N ist bisher schon mehrfach hinsichtlich seines Vorkommens namentlich dort, wo er sich wie im Grubeninhalt und den sonstigen Ausscheidungen von Mensch und Tier in etwas gröfserer Menge findet, verfolgt worden, teils mit Rücksicht auf seinen Wert als Pflanzennährstoff, teils hinsichtlich der Möglichkeit der Verunreinigungen öffentlicher Wasserläufe.

Als eine hierfür geeignete Methode hat sich die Kjeldahlsche N-Bestimmung erwiesen; obschon gelegentlich auch andere Verfahren wie das von Will-Varrentrapp geeignet sein können.

Anders liegt es mit dem Nachweis des N dort, wo derselbe wie in Flüssen, Bächen, Brunnen in hochgradiger Verdünnung erwartet werden mufs.

Die elementaranalytische Methode von Frankland und Armstrong kann schon wegen der aufserordentlichen Umständlichkeit, die über den Arbeitsaufwand einer N-Bestimmung nach Dumas noch hinausgeht, keinen Anspruch auf allseitige Benutzung erheben und hat solchen auch nicht gefunden.

Am meisten ist noch die Abspaltung von N in der Form von NH_3 durch Erwärmen mit alkalischer Permanganatlösung

empfohlen worden (Wanklyn, Chapmann, Smith), aber sie ist wegen der unvollständigen Spaltung der organischen Verbindungen sehr ungenau und deshalb wohl ganz entbehrlich.

Die Kjeldahlsche Methode gibt eine sichere Bestimmung des Gesamt-N, und Hand in Hand mit einer NH_3-Bestimmung auch den organisch gebundenen N.

Aber gerade sie hat bis jetzt wenig Benutzung erfahren.

Dies kann auffällig gefunden werden, wenn man erwägt, dafs die durch städtische Abgangswässer abgeschwemmten N-Mengen sehr erheblich sind. Berliner Kanalwasser führt im Liter bis 0,223 g N, und da 113 l pro Tag und Kopf entleert werden, so kommen dann in absoluter Menge täglich bis 25,1 g N zur Ableitung aus der Stadt.

Es gehören grofse Wassermengen dazu, solche N-Mengen zu hochgradiger Verdünnung zu bringen. Eine solche wird wohl auch nicht immer in den Flüssen herbeigeführt.

Aber schon mäfsige Verdünnungen machen es unmöglich, die Kjeldahlsche Methode unmittelbar anzuwenden. Wenn man auch schliefslich durch Eindampfen grofser Wassermengen eine analytisch fafsbare Konzentration herstellen kann, so hat eben die Umständlichkeit des Verfahrens, die Kostspieligkeit und der Zeitaufwand alle Untersucher bisher abgeschreckt, auf diesem Wege die Frage der Flufsreinigung zu studieren. Noch weniger aussichtsreich mufste die Analyse von Quell-, Grund- und nicht verunreinigten Flufswässern erscheinen.

Aber vielleicht ist nicht die mühselige Technik der alleinige Grund des Fehlens von Untersuchungsergebnissen, sondern die Anschauung, dafs man die chemische Wasseruntersuchung überhaupt als entbehrlich betrachtet hat. Man hat über die Feststellung der Bakterienzahl oft vergessen über Mittel nachzudenken, den Nährstoff, auf dem die Bakterien wachsen, selbst zu erkennen.

Die »Nährstoffe«, welche man früher durch die Analysen bestimmen wollte, wurden nebensächliche Dinge. Fast ausschliefslich wurde nur mehr in der Analyse auf gewisse Umwandlungsprodukte Rücksicht genommen. Die Feststellung des Vorkommens von N in Grund-, Quell- und Oberflächenwässer befafst sich sozu-

sagen ausschliefslich mit der Bestimmung von NH_3, NO_2H, NO_3H, nicht aber mit der Untersuchung auf organische N-Verbindungen.

Die landläufige Darstellung sieht den N in den Wässern — mit den in der Natur begründeten Ausnahmen im Meteorwasser, und bei tiefliegenden Grundwässern — als Verunreinigung an, ausgehend von menschlichen, tierischen und pflanzlichen Abbaustoffen; sie hat damit unrecht. Denn es ist nicht bewiesen, dafs die N-Verbindungen nicht auch andrer Herkunft sein können.

Man nimmt weiters an, dafs der N der »Abfallstoffe und besonders des Harns« schnellstens in NH_3 oder NO_2H und NO_3H übergeführt werden; aber auch dies ist nicht richtig. Findet man doch im Berliner Sielwasser, das streckenweise im Winter bei —20° noch +15 bis +25° aufweist, wie ich dargetan habe, 90% an organischem N vor. In dieser ganzen Lehre vom Vorkommen des NH_3, der NO_2H, NO_3H liegt Tatsächliches mit sehr reichlichem Hypothetischen gemischt vor und dringend bedürfte es der Scheidung.

Man sollte denken, wenn es der Mühe wert ist, in hunderttausenden von Fällen im Trinkwasser nach Salpetersäure, salpetriger Säure, Ammoniak zu suchen, dann müfste es doch auch notwendig sein, noch die Muttersubstanzen zu bestimmen, aus denen das Ammoniak sich bildet, oder auch nachzuweisen, dafs nur mehr NH_3 vorhanden ist, also der Zerlegungsprozefs zu Ende gekommen sei. Aber a priori ist letzteres doch nicht in allen Fällen vorauszusetzen. Man könnte mir aber, wenn ich sage, man habe bei der Suche nach N-haltigen Stoffen im Wasser die wichtigste Gruppe ganz beiseite gelassen, entgegnen, man habe durch die analytische Feststellung der »organischen Substanz« eines Wassers ein wichtiges Kriterium zur Erkennung von komplizierteren organischen Stoffen angewandt.

Auch das kann man nicht zugeben. Die Bestimmung der organischen Substanz in ihren üblichen Formen der verschiedenen Permanganatmethoden hat einen sehr problematischen Wert und zur Ableitung der sogenannten Faulfähigkeit der Wässer ist sie nur bedingt leistungsfähig.

Wenn aber irgendwo die Frage der Fäulnisfähigkeit in Betracht gezogen werden soll, ja wenn überhaupt nur die Entwicklungsmöglichkeit von Bakterien und anderen kleinsten Lebewesen in Betracht kommt, ist in der überwiegenden Zahl der Fälle organisch gebundener N entscheidender als die »organische Substanz« allein, ohne Kenntnis der vorhandenen N-Menge.

Gewifs ist auch der gebundene N nicht ein universelles Nährmaterial, sondern die Art der chemischen Natur der Substanz entscheidend. Die Abfallstoffe (Sielwasser, Grubeninhalt u. dgl.) enthalten neben höher zu bewertenden Stoffen reichlich solche Körper wie die Aminosäuren, Diaminosäuren, Polypeptide, Extraktivstoffe, die alle mehr oder minder gut zur Ernährung der Mikroorganismen sich eignen.

Ja sie sind nicht nur N-Quellen an sich, sondern wirkliche Nährstoffe, die neben Wachstum bei den Fäulniserregern zum Stoffwechsel selbst zu dienen vermögeu, also den ganzen Haushalt solchen Organismen bestreiten lassen.

Die Erkenntnis des N-Gehaltes in organischer Bindung mufs uns also, wenn auch nicht ganz präzis, doch schon mit grofser Annäherung einen Aufschlufs über die Wasserbeschaffenheit geben.

Ganz abgesehen von der Wichtigkeit einzelner Verbindungen (ausnahmslos liegen Gemische vor), liegt in der analytischen Feststellung des absoluten Gehaltes einer Flüssigkeit an gebundenem N ein sicherer Anhaltspunkt zur Bewertung des maximalsten Nutzwertes eines Wassers für Mikroorganismen. Die Bakterienernte, welche in einer gegebenen Flüssigkeit erreicht werden kann, ist ganz von der absoluten Konzentration dieser organischen N-Verbindungen abhängig Wenn in einer Lösung eines fäulnisfähigen Gemisches die Ernte 1 erzielt wird, und wir verdünnen mit reinem Wasser auf das 1000fache, so ist auch die maximalste Ernte nur $^1/_{1000}$, d. h. die zu erreichende Bakterienzahl nur $^1/_{1000}$ (meist weniger).

Schon aus den N-Verbindungen kann man im voraus sagen, ob irgendwie Mifsstände sich ergeben können.

Die in der Volumeinheit sich ergebende maximale Ernte steht natürlich in engen Zusammenhang mit der Sauerstoffzehrung. Je kleiner die Ernten, um so leichter tritt der O in das Wasser ein, und um so sicherer kann nur aerobe Zerlegung in Frage kommen. Ein Wasser wird also sicher um so günstiger zu beurteilen sein, je geringer sein organischer N-Gehalt ist.

Ammoniak als Nährstoff kann nur dann vom Standpunkt der Frage bedenklicher Verunreinigung in Betracht kommen, wenn gleichzeitig N-freie Substanzen vorhanden sind. An sich ist NH_3 aufser für die Nitrat- und Nitritbildner als Nährstoff ohne Bedeutung.

Ich glaube, die hier angeführten Gründe werden für den Wert der Bestimmung des organischen N wohl Beachtung verdienen. Der N in organischer Bindung entspricht dem Gesamtstickstoff abzüglich des Ammoniaks, welch letzteres leicht genug festzustellen ist.

Der organische Stickstoff kann in zwei wesentlich verschiedenen Zuständen in die Erscheinung treten — als gelöste Substanz und als Suspendiertes.

Unter letzterem verstehe ich nicht nur das gröbere, durch Papier zu filtrierende Material, sondern auch die feinsten Teilchen, wie die Bakterien.

Bei der grofsen Bedeutung, welche gerade die suspendierten Stoffe mit Hinsicht auf die Flufsverunreinigung haben, nahm ich schon vor mehreren Jahren Gelegenheit, mein Augenmerk auf den N-Gehalt dieser Stoffe zurichten. (Archiv f. Hyg., Bd. XLVI, S. 1.)

Neben der Bestimmung des organischen Stickstoffs im ganzen kann man alle suspendierten Stoffe (nebst kleinen Anteilen von gelösten Kotanteilen) aus dem Wasser gewinnen durch Ausfällung des zu untersuchenden Wassers durch essigsaures Eisen in der Wärme; der Niederschlag läfst sich leicht sammeln und der Kjeldahlbestimmung unterwerfen. Da man ohne Unbequemlichkeit 20 l Wasser für eine Analyse ver-

verwenden kann, hat die Methode einen sehr hohen Grad von Genauigkeit. Sie fällt auch die Bakterien quantitativ.

Sie ist vor allem imstande, auf Flufsverunreinigung durch städtische Abgangswässer angewandt, die Verschleppung der suspendierten Substanz auf weite Wegstrecken zu studieren, und, was uns bis jetzt fehlt, zu zeigen, wie lange das eigentliche Sedimentierungsgebiet ist.

Es kann nach dem Gesagten von Interesse sein, das Vorkommen des N in Wasser also genauer zu verfolgen; ergänzt man die Bestimmung des organischen N, gelöst und suspendiert, noch durch NH_3-Bestimmungen und Bestimmungen der Nitrate und Nitrite, so läfst sich hoffen, einen Schritt in der Beurteilung der Wässer vom hygienischen Standpunkt wieder etwas weiter zu kommen. Freilich werden dazu wohl gröfsere Untersuchungsreihen nötig werden.

Wir erhalten dann fünf besondere Stoffe und Gruppen als tauglich zur Beurteilung:

1. Gelöster N: a) organisch gebunden.
   b) Ammoniak.
   c) NO_3H.
   d) NO_2H.
2. Suspendierter N.

Vorausgesetzt, man erhebt die Bilanz des N in dieser Weise, so darf man sicher erwarten, näheres über die Zerlegungsvorgänge oder über den Reinheitsgrad des Wassers aussagen zu können. Vielleicht lassen sich auch über die noch immer unvollständig bekannten Verhältnisse der Absorption N-haltiger Verbindungen im Boden nähere Aufschlüsse gewinnen. Gerade mit Rücksicht auf letztere hat man den biologischen Vorgängen viel zu wenig Bedeutung zugemessen. Das Bakterienwachstum im Boden z. B. ist durch den Verbrauch N-haltiger Stoffe und deren Umwandlung in Leibessubstanz ein wichtiger Faktor für das Schwinden organischer N-Verbindungen.

Das wichtigste ist zunächst die Frage, ob es möglich ist, die Bestimmung des Gesamt-N in allen Wässern auszuführen.

Die Grenze liegt einmal in der Schärfe der Titrierung und unvermeidlichen Fehlern der Kjeldahlschen Methode überhaupt, die mehrere Zehntel Milligramm zum allermindesten ausmachen. Wenn man den mittleren N-Gehalt eines Sielwassers zu 0,1 g N pro 1 annimmt, so könnte schon eine erhebliche Verdünnung vorhanden sein, um die Grenzen der Methode zu erreichen, falls man nicht zu kleine Flüssigkeitsmengen anwendet. Wie es aber mit reineren Wässern steht, war nicht vorauszusehen.

Ich habe mich daher mit orientierenden Analysen beschäftigt, um über die tatsächlichen N-Werte ins klare zu kommen. Von Trinkwässern wurden je 20 l unter etwas Säurezusatz für die N-Bestimmung eingedampft; in anderen Fällen reicht man mit weniger Wasser sehr gut aus.

Mehrfach wurde neben N in der einfach eingedampften Wasserprobe nach Verjagung der Karbonatkohlensäure auch der C elementaranalytisch bestimmt, um zu erfahren, in welchen Relationen dieses Element zum N steht.

Einen wesentlichen Teil der Analysen hat Herr Dr. Brunner damals Assistent an meinem Institut ausgeführt. In die Tabelle habe ich noch Zahlen eingetragen, die ich früher im Mittel für den N-Gehalt der suspendierten Substanz und für die Verbrennungswärmen dieser Stoffe erhalten hatte. (Archiv für Hyg. Bd. XLVI, S. 33.)

In nachstehender Tabelle habe ich die Analysen pro Liter zusammengestellt.

	Leitungswasser	Spreewasser	Kanalwasser	Torfwasser †)
Trockenrückstand	247	—	920,0 *)	1514 †)
Organ. Kohlenstoff	5,58	—	157,3 *)	692,6 †)
Gesamtstickstoff	0,46	2,13	65,33 *)	7,64 †)
Suspend. Stickstoff	(0,03)	(0,56)	(23,39)	—
g-Kal.	(10,3)	(44,5)	(2091,3)	(1459,2) †)

*) Wasser vorher filtriert.

†) Vorher filtriert.

Das Berliner Leitungswasser, ein filtriertes Seewasser, lieferte pro l nur 0,46 mg Gesamtstickstoff; es enthielt kein NH_3 und keine Nitrate und Nitrite. Der C-Gehalt ist über zehnmal so grofs wie der N-Gehalt. Der letztere ist zu gering, als dafs man bei Verwendung kleiner Wassermengen ihn auffinden könnte.

Trotz der Filtration findet man doch noch etwas mit Eisen fällbare Substanz. Letztere könnte ja auch etwas von Huminsubstanzen beeinflufst sein, aber es ist unschwer zu zeigen, dafs — abgesehen vom bakteriologischen Befund — das Wasser sich nicht als optisch rein erweist.

Läfst man den Strahlenkegel der elektrischen Lampe im verdunkelten Zimmer in das Wasser fallen, so zeigte sich deutlich der blaue Lichtkegel.

Was ich früher an suspendiertem N gefunden hatte, ist viel weniger als der Gesamt-N. Jedenfalls sind also gelöste N-haltige organische Stoffe im Wasser vorhanden. Auch solche Körper mögen manchmal aus Moorlagern herrühren, wenigstens enthält der konzentrierte Moorextrakt aus Torfmull reichlich N. (Siehe Tabelle.) Aber diese Substanz kann selten störend sein, wie ja die Farbe des Wassers schon darüber Auskunft gibt, ob solches vorliegt, weil bei Verdünnungen, die das Hundertfache meines künstlichen Extraktes ausmachen mögen, aber deutlich gelb sind, die Bedeutung des N-Gehaltes aus Moorsubstanzen ganz zurückgedrängt wird.

Die Moorsubstanz hat auch noch die sehr charakteristische Eigenschaft des hohen Gehalts an N-freien Stoffen organischer Natur, der sich in hohem C-Gehalt ausprägt.

	$\frac{C}{N}$
Leitungswasser	12,1
Moorwasser	90,7.

Auch für Spreewasser erkennt man eine erhebliche Mehrung des gelösten N und ähnlich für das Kanalwasser. Die gesamte Menge des organisch gebundenen N prägt sich demnach recht wohl als charakteristisches Merkmal eines Wassers aus und pafst sehr gut zur Vervollständigung der Analysen über die suspen-

dierte Materie, für welche ich schon früher die N-Bestimmung neben Feststellung der Verbrennungswärme der Stoffe empfohlen habe.

Die methodisch durchgeführte Bestimmung des N in den Wässern erscheint demnach aussichtsreich.

Ich gebe aber gerne zu, dafs wenigstens für an sich reinere Wässer, wie sie getrunken werden, die Kjeldahlsche Methode, so wie sie ist, sich nicht einbürgern kann.

20 l abzudampfen und ohne Verlust zu arbeiten, ist zu umständlich. Nur dann, wenn man mit Rücksicht auf einzelne Fragen dazu gezwungen ist, läfst sich die Arbeitslast rechtfertigen, die Beschränkung auf enge Kreise der Analyse ergibt sich aber von selbst.

Ich habe mich deshalb bemüht, eine Verbesserung der N-Elementaranalyse zu erreichen, welche die Anwendung von relativ kleinen Wassermengen erlaubt. Dies ist mir durch die Umgestaltung der Kjeldahlschen Methode in eine kolorimetrische Methode gelungen. Eine Reihe von mir ausgeführter Vorversuche verlief so günstig, dafs ich diese Methode durch Herrn Korschun näher auf ihre praktische Durchführung untersuchen liefs.

Ich glaube, man wird die N-Bestimmung des Wassers nicht gerne missen; die kolorimetrische Methode ist aber auch für viele andere Zwecke, wo es sich um minimales Vorkommen des N handelt, mit Vorteil anzuwenden.

Näheres bringt die nachfolgende Abhandlung. Kolorimetrisch kann man nach Poleck noch 0,0005 mg NH_3 bei Verwendung in 100 ccm Kolorimeterflüssigkeit noch scharf bestimmen, so weit geht freilich die Genauigkeit bei der Ausführung der N-Bestimmung nach meinem Verfahren nicht, da man ja mit andern Versuchsfehlern als der kolorimetrischen Ablesung zu rechnen hat. Aber sie erlaubt Aufgaben, die bisher nicht angreifbar waren, sicher zu lösen; auch eine vieltausendfache Verdünnung N-haltiger Abfallstoffe kann auf diesem Wege mit Sicherheit festgestellt werden.

Über eine Methode zur Bestimmung geringer Stickstoffmengen und die Verwendung dieser Methode für die Untersuchung der Verunreinigung des Wassers durch organische Substanzen.

Von

Dr. **S. Korschun.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Von den das Wasser verunreinigenden Stoffen sind diejenigen organischen Substanzen, welche von den menschlichen oder überhaupt tierischen Abfällen (Harn, Kot) herrühren, von besonderer Bedeutung. Sie gelangen in das Wasser entweder durch den Boden (Grundwasser) oder unmittelbar, z. B. mit den Kanalwässern. Im ersten Falle werden die organischen Substanzen durch den Boden filtriert, wo sie gleichzeitig verschiedenen biologischen Prozessen, die ihre Zersetzung begünstigen, unterworfen werden. Man findet daher im Brunnenwasser vielfach Ammoniak, salpetrige — und Salpetersäure. Man hat bisher die Frage, ob nicht auch organische Stoffe N-haltiger Natur die tieferen Bodenwässer erreichen niemals einer genauen Untersuchung unterzogen und doch kann man nicht von vornherein die Durchgängigkeit des Bodens für Körper komplizierter Zusammensetzung in Abrede stellen.

Bei der Verunreinigung der Flüsse gelangen die organischen Stoffe in diese meist in demselben Zustande, in welchem sie den

tierischen Organismus verlassen. Allmählich unter dem Einflusse verschiedener Faktoren werden die organischen Substanzen im Flufswasser einer endgültigen Oxydation unterworfen und die Flüsse von der Verunreinigung befreit. Die Hauptaufgabe der Untersuchung läge hier in dem Nachweis der Anwesenheit von organischen Substanzen, sowohl in Form von im Wasser löslichen Verbindungen, als auch in Form von unlöslichen, suspendierten Stoffen, dieser charakteristischen Elemente der tierischen Abfälle.

In dem Falle, dafs die Abwässer, ehe sie den Flufs erreichen, einer chemischen Bearbeitung zum Zwecke ihrer Befreiung von suspendierten Partikeln unterworfen werden, ist ihr Gehalt an organischen Substanzen noch immer bedeutend.

In all diesen Fällen, welche ich als Beispiele gewählt habe, liegt die Notwendigkeit vor, den N, soweit er in organischer Bindung vorhanden ist, näher festzustellen. Die Bedeutung, welche der exakte Nachweis organisch gebundenen Stickstoffs haben kann, ist durch Prof. Rubner in der vorhergehenden Abhandlung näher geschildert worden, so dafs ich darauf verzichten kann, näher auf den Wert einer solchen Methodik für die Hygiene einzugehen.

Leider besafsen bis jetzt die Hygieniker keine Methode, welche mit genügender Genauigkeit und doch auch Bequemlichkeit eine N-Bestimmung gestattet hätte. Die an sich vorzügliche Kjeldahlsche Methode macht es notwendig, grofse Wassermengen (bis 20 l) erst zu konzentrieren, ehe man die in Quellen und Trinkwässern vorkommenden Mengen von gebundenem N quantitativ messen kann. Nur auf solche Fälle, mäfsiger Verdünnung, wo die Verunreinigung noch gerade zulässig ist, wo also noch keine Fäulnis und andere unangenehme Erscheinungen eingetreten sind, war sie anwendbar.

Aus dem vorangegangenen ist zu ersehen, wie wichtig es war, eine Methode zu finden, die die Bestimmung derjenigen, verhältnismäfsig geringen Stickstoffmengen, die gewöhnlich in

den verschiedenen Gewässern enthalten sind, gestattet und mit genügender Genauigkeit ihre Schwankungen feststellt.[1])

Beschreibung der Methode.

Das Prinzip der Methode ist folgendes: Durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure und Kaliumsulfat wird der gesamte Stickstoff in Ammoniak übergeführt und das letztere sodann kolorimetrisch nach Frankland und Armstrong bestimmt. Zur Verbrennung haben wir Kolben nach dem Muster der Kjeldahlschen anfertigen lassen. Dieselben sind kleiner, so dafs ihr kugeliger Teil 50—60 ccm Flüssigkeit fafst. Bei der Kjeldahlschen Bestimmung stören bis zu einem gewissen Grade die Nitrate und Nitrite. Proskauer und Zülzer haben vorgeschlagen, wenn der Salpetergehalt 500 mg pro l nicht überschreitet (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII, 1889, S. 216), das Wasser vorher durch naszierenden Wasserstoff von der Nitroverbindungen des N zu befreien. Walter (Walter und Gärtner in Tieman-Gärtners Handbuch, Die Untersuchung und Beurteilung von Wasser 1895, S. 257) empfiehlt dagegen die Anwendung von SO_2 zur Entfernung der Nitrate[2]).

In meinen Versuchen wurde das zu untersuchende Wasser in schwefelsaurer Lösung bis fast zur Trockne verdampft, Bedingungen, unter welchen der gröfste Teil der stickstoffhaltigen Säuren entweicht.

Sind jedoch gröfsere Mengen von Salpeter- bzw. salpetriger Säure vorhanden, so wird es sich empfehlen, durch Reduktion dieselben in Ammoniak überzuführen und durch eine besondere Bestimmung derselben, etwa mittels Indigolösung, eine entsprechende Korrektion am Gesamtstickstoff anzubringen. Ist die Ver-

---

1) Ich habe daher auf Veranlassung des Herrn Geh.-Rats Professor Dr. M. Rubner versucht, eine diesen Zwecken entsprechende Methode auszuarbeiten, und zwar durch Überführung des Stickstoffs in Ammoniak und kolorimetrische Bestimmung des letzteren, nachdem Geheimrat Rubner bereits durch Vorversuche sich von der Ausführbarkeit der Methode überzeugt hatte.

2) Rubner, Chemische und biologische Klärung der Abwässer. Diese Zeitschr., Bd. XLII, S. 152.

brennung vollendet, so schreitet man nach entsprechender Verdünnung zur NH_3 Bestimmung auf kolorimetrischem Wege.

Bei unseren Versuchen bereiteten wir eine Stammlösung von Ammoniumchlorid, die 0,1 g Ammoniak im Liter oder 0,1 mg in 1 ccm enthielt. Aus dieser Lösung wurden die nötigen Verdünnungen hergestellt.

Da das destillierte Wasser des Laboratoriums nicht vollständig ammoniakfrei war, so wurde dasselbe durch Destillation mit Ätzalkali von Ammoniak vollständig befreit.

Zur quantitativen Bestimmung des Ammoniaks benutzten wir zwei Hehnersche Zylinder. Die Höhe der Flüssigkeitssäule bis zur oberen Teilung, sowie der Durchmesser waren für beide Zylinder vollständig gleich. Auch die Genauigkeit der Einteilung in Kubikzentimeter wurde streng kontrolliert. Bei der Bestimmung des Ammoniaks nach der Methode von Frankland und Armstrong mufs zunächst festgestellt werden, bei welcher Intensität der Farbe der Vergleichsflüssigkeit die genauesten Resultate erzielt werden können. Zu diesem Zwecke verfuhren wir folgenderweise:

In einen Zylinder von 100 ccm des Kolorimeters wurde mittels einer präzisen Pipette eine bestimmte Menge der ammoniakalischen Stammlösung (siehe oben) gebracht, z. B. 0,5 ccm — 0,75 ccm — 1,0 ccm — 1,5 ccm — u. s. w., was 0,05 — 0,075 — 0,1 — 0,15 mg Ammoniak entspricht. In den zweiten Zylinder wurde eine $1\frac{1}{2}$ bis 2—3fache usw. Menge derselben Stammlösung abgemessen. Jetzt wurden in jeden Zylinder je 2 ccm des Nefslerschen Reagens zugesetzt, worauf beide Zylinder mit ammoniakfreiem Wasser bis zur oberen Teilung gefüllt wurden. Nach 15—20 Minuten wurde aus dem Zylinder, der mehr Ammoniak enthielt, so viel Flüssigkeit herausgelassen, bis die Intensität der Farbe in beiden Zylindern vollständig gleich erschien.

Diese Versuche zeigten, dafs die Menge des Ammoniaks in 100 ccm 0,6 mg nicht übersteigen darf, da bei gröfserem Gehalt desselben beim Zusatz des Nefslerschen Reagens eine Trübung entsteht, welche den Charakter der Farbe verändert und die Ausgleichung der Farben in beiden Zylindern verhindert. Ander-

seits entsteht bei einem Gehalt von weniger als 0,05 mg Ammoniak beim Zusatz des Nefslerschen Reagens eine zu schwache Färbung, was wiederum die Genauigkeit der Resultate beeinträchtigt. Grofse Verdünnungen sind unerwünscht auch aus dem Grunde, da die Fehler der Bestimmung bei Multiplikation entsprechend vergröfsert werden. Es zeigte sich also, dafs die genannten Resultate erreicht werden können bei einem Gehalt von 0,1—0,2—0,25 mg $N\text{-}H_3$ im Vergleichszylinder.

Man kann ja schliefslich noch weiter in der Verdünnung gehen. So gibt z. B. Poleck, (Kolorimetrie v. G. und H. Krüfs 1891, S. 46) an, dafs beim Vergleich von Normallösungen, welche 0,1 und 0,01 mg $N\text{-}H_3$ in 100 ccm enthielten, mit ammoniakalischen Destillaten noch 2 % oder selbst 1 % der Vergleichslösung herausgefunden werden können.

Nach diesen vorläufigen Untersuchungen unternahmen wir eine Stickstoffbestimmung in frischer käuflicher Hefe. Dieselbe erschien uns besonders geeignet zur Prüfung der Brauchbarkeit unserer Methode, weil lebende Zellen Stickstoff in den verschiedensten Bindungsformen enthalten.

Die Bestimmung des Stickstoffs in käuflicher Hefe. Die Versuche wurden folgenderweise angestellt: Auf einer genauen chemischen Wage wurden schnell 1—2 g Hefe abgewogen und sofort eine feine Aufschwemmung in destilliertem ammoniakfreiem Wasser hergestellt. Die Aufschwemmung wurde in einen 100 ccm fassenden Mefskolben gebracht und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt. Nachdem die Flüssigkeit sorgfältig durchgeschüttelt war, wurde in zwei Verbrennungskölbchen je 1 ccm gebracht. Die Aufschwemmung wurde jedesmal energisch geschüttelt, damit die Verteilung der Hefezellen eine möglichst gleichmäfsige bliebe. Jedes Verbrennungskölbchen wurde alsdann mit je 3—4 ccm chemisch reiner konzentrierter Schwefelsäure und je 1 g Kalisulfat beschickt. Der Inhalt der Kölbchen wurde jetzt über einem Bunsenbrenner zunächst mit schwacher, alsdann mit voller Flamme erhitzt. Das Sieden wurde so lange fortgesetzt, bis die Flüssigkeit vollständig farblos wurde. Nach dem Abkühlen wurde die Flüssigkeit in einen 100 ccm fassenden Mefskolben ausge-

gossen, der Verbrennungskolben einigemal mit Wasser ausgespült und das Spülwasser ebenfalls in den Meſskolben gebracht. Durch Zusatz einer 15—30 proz. Natronlauge wurde die Flüssigkeit alkalisch gemacht und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Es soll eine stärkere Erhitzung der Flüssigkeit vermieden werden, was durch Zusatz der Lauge in kleinen Portionen und durch zeitweise Abkühlung des Kölbchens im Wasserleitungsstrahl erreicht wird. Wenn sich in der Flüssigkeit ein Niederschlag bildet, so wird dieselbe filtriert, und die Ammoniakbestimmung wird mit dem Filtrat nach der oben beschriebenen Methode ausgeführt. Der Stickstoff wird aus dem Ammoniakgehalt berechnet. Aus den vorangegangenen Ausführungen über den Einfluſs der Intensität der Farbe der Vergleichsflüssigkeit auf die Genauigkeit der Resultate ist zu ersehen, daſs man zunächst feststellen muſs, bei welcher Menge der zu untersuchenden Lösung, nach Zusatz des Neſslerschen Reagens, eine Färbung entsteht, die annähernd einem Gehalte von 0,1—0,25 ccm Ammoniak in 100 ccm entspricht. Auſserdem ist dafür zu sorgen, daſs die Flüssigkeit in beiden Zylindern im Verlaufe der Versuche vollständig klar bleibt, und daſs der Unterschied der Farben in beiden Zylindern nicht zu groſs ist. Die Erfüllung der letzteren Bedingung ist notwendig, damit nach der Ausgleichung der Farbe kein zu groſser Unterschied der Flüssigkeitshöhe in beiden Zylindern entstehe. Die Tab. 1 (S. 98) erläutert die betreffenden Versuche.

Die Genauigkeitsgrenze der Methode hängt in erster Linie von der Genauigkeitsgrenze der angewandten kolorimetrischen Methode ab, auſserdem aber sind auch durch die zahlreichen Manipulationen, der Verbrennung, Verdunstung usw. selbst gewisse Grenzen gezogen.

Bei einer Vergleichslösung von 0,05 mg NH_3 lag bei einer Gesamthöhe der Flüssigkeitsschicht von 150 mm, die Unterschiedsschwelle für den Verfasser bei 7,5 mm, entsprechend 5% der Gesamthöhe. Der mögliche Ablesungsfehler betrug also im günstigsten Falle, d. h. bei einem Verhältnis der Schichthöhen von 100 : 100, 0,00265 mg NH_3, bei einem Verhältnis von 100 : 90, 0,00327 mg N oder ca. 0,003 mg N.

Hauptsächlich zwei Fehlerquellen rühren von der chemischen Methode her. Infolge der Neutralisation der Schwefelsäure befinden sich grofse Mengen von Salzen im Reaktionsgemisch, und diese verhindern es, mehr als 40 ccm desselben bei der kolorimetrischen Bestimmung zur Anwendung zu bringen, da sonst leicht Niederschläge sich bilden. Der mögliche Fehler wird hierdurch auf das $2^1/_2$fache erhöht.

Tabelle 1.

Angewandte Hefe in g	Stickstoff in mg			Stickstoff in Prozenten der Hefe			
	Berechnet aus dem Mittelwert	Gefunden	Fehler	nach der neuen Methode		nach Kjeldahl	
I. 0,01	0,265	0,26	— 0,005	2,60	2,65	2,59	2,55
0,02	0,530	0,54	+ 0,010	2,70		2,51	
II. 0,01	0,223	0,214	— 0,009	2,14	2,23	2,28	
0,02	0,446	0,478	+ 0,032	2,39			
0,0221	0,493	0,490	— 0,003	2,22			
0,0221	0,493	0,515	+ 0,022	2,33			
0,0442	0,986	0,930	— 0,056	2,10			
0,0442	0,986	0,970	— 0,016	2,19			
III. 0,0161	0,356	0,367	+ 0,011	2,28	2,21	2,22	2,23
0,02068	0,457	0,450	— 0,007	2,18		2,24	
0,02068	0,457	0,455	— 0,002	2,18			
0,0322	0,712	0,730	+ 0,018	2,28			
0,04137	0,914	0,878	— 0,036	2,12			
0,04137	0,914	0,924	+ 0,010	2,24			
IV. 0,02168	0,518	0,512	— 0,006	2,36	2,39	2,34	2,33
0,02168	0,518	0,540	+ 0,022	2,49		2,32	
0,04336	1,036	1,060	+ 0,024	2,45		2,32	
0,04336	1,036	0,995	— 0,041	2,28			

Da sich zur kolorimetrischen Bestimmung ein Gehalt von mehr als 0,25 mg NH_3 nicht eignet, so mufs die Reaktionslösung bei einem Gehalt von mehr als 0,625 g NH_3 entsprechend verdünnt werden, die Fehler werden entsprechend bei der Umrechnung vergröfsert. Dieser letzte Umstand fällt besonders schwer bei der Wasseranalyse ins Gewicht.

Wo eine derartige Verdünnung nicht erforderlich war, konnte eine Abweichung von mehr als 0,03 mg N vom Mittelwerte nicht beobachtet werden.

Die Durchschnittszahlen aus einer Reihe von Stickstoffbestimmungen nach der kolorimetrischen Methode stimmen also gut mit denen, die nach der Kjeldahlschen Methode gewonnen sind, überein. Die Differenz schwankt (relativ) in einzelnen Analysen zwischen 0,9—4%. Natürlich kann man noch kleinere NH_3-Mengen als in den Verbrennungen mit Hefe auffinden, aber die Genauigkeit der Resultate in Prozenten der Abweichungen ausgedrückt, wird dann kleiner.

Die Bestimmung der Stickstoffmenge im Wasser.

Bei der Bestimmung der Verunreinigung des Wassers sowie bei der Beurteilung des Selbstreinigungsprozesses der Flüsse ist nicht nur die Kenntnis des Gesamtgehaltes an Stickstoff von grofsem Wert, sondern auch die Feststellung, in welcher Form der Stickstoff im Wasser enthalten ist. Bei der Analyse ist deswegen zu bestimmen:

1. Die Menge des Ammoniaks, der salpetrigen und Salpetersäure;
2. die Menge des Stickstoffes in den gelösten organischen Verbindungen und
3. die Menge des Stickstoffes in den ungelösten suspendierten Stoffen.

Es fragt sich nun, bei welcher Verdünnung des Inhaltes der Senkgruben und des Harns eine genügend genaue Bestimmung ihres Gehaltes in Flufs- und anderen Wasserarten mittels der kolorimetrischen Methode noch zu erzielen ist. Wie unsere Versuche mit Hefe zeigten (siehe Tabelle Nr. 1), ist eine quantitative Bestimmung von 0,21—0,26 mg noch gut möglich, wobei der Fehler bei einzelnen Bestimmungen mit der zweiten Dezimale ausgedrückt wird und 0,03—0,05 mg nicht übersteigt.

Der Inhalt der Senkgruben enthält durchschnittlich 0,7 % Stickstoff oder 7 g im Liter, also bei einer 35000fachen Verdünnung wird der Stickstoffgehalt 0,2 mg im Liter betragen. Er ist dann noch sicher und genau zu bestimmen.

Der Harn enthält 1,2 % Stickstoff oder 12 g im Liter, bei einer 50000fachen Verdünnung würde der Stickstoffgehalt erst 0,2 mg betragen. Man kann natürlich mit der Verdünnung noch weiter gehen. Wir können also die Verunreinigung der Abwässer durch die genannten Substanzen bei einer Verdünnung von 35000—50000 noch feststellen. Die Empfindlichkeit unserer Methode ist also viel gröfser als die der andern, bisher angewandten chemischen Untersuchungsverfahren.

Methodik. Ein genau abgemessenes Wasserquantum (200—1000 ccm) wird nach Zusatz von 2—3 ccm verdünnter Schwefelsäure auf einem Wasserbade bis 20 ccm eingedampft und alsdann sorgfältig in einen Verbrennungskolben übergeführt.

Nach Zusatz von 5—8 ccm konzentrierter Schwefelsäure und ca. 1 g schwefelsaurem Kali wird die Verbrennung der organischen Substanzen, wie oben beschrieben, vollzogen. Zuweilen, bei einem grofsen Salzgehalt der Flüssigkeit, siedet dieselbe unter heftigem Aufstofsen, wobei ein Teil der Flüssigkeit leicht verloren gehen kann. Um diese Gefahr zu vermeiden und ein gleichmäfsiges Kochen zu erreichen, genügt es, in den Kolben ein wenig Talk zuzusetzen. Die Anwesenheit dieser Substanz verhindert nicht die Erkennung der Endreaktion, da beim Aufhören des Siedens der Talk schnell zu Boden sinkt. Die vollständige Entfärbung der Flüssigkeit wird als Zeichen der vollendeten Verbrennung angesehen.

Während des Kochens ist darauf zu achten, dafs im Kolben eine genügende Menge Flüssigkeit enthalten ist, widrigenfalls werden die Ammoniaksalze unter Verlust von Ammoniak zersetzt. Ist die Verbrennung beendet, so wird der Inhalt in einen 200 oder 250 ccm fassenden Mefskolben gebracht, mit einer geringen Menge Wasser verdünnt, mit 15—30 % Natriumhydratlösung neutralisiert und aufserdem noch ein Überschufs der-

selben Lösung bis zur deutlich alkalischen Reaktion zugesetzt. Man fügt dann noch einige Kubikzentimeter einer 15proz. Sodalösung hinzu, füllt den Kolben bis zur Marke mit Wasser und läfst nach tüchtiger Durchschüttelung 15—20 Minuten stehen. Das sich ausscheidende Sediment wird abfiltriert und die Stickstoffbestimmung im klaren Filtrate geschieht in der oben beschriebenen Weise.

Für jede Wasserprobe werden mindestens zwei Analysen ausgeführt.

Die Bestimmung der Stickstoffmengen in im Wasser suspendierten Stoffen.

Prof. Rubner hat eine sehr bequeme Methode zur Ausfällung der im Wasser suspendierten Partikeln vorgeschlagen. Zu diesem Zwecke wird zu einem grofsen Wasservolumen (5 bis 10 l) eine frisch bereitete Lösung von essigsaurem Eisen zugesetzt und die Flüssigkeit eine Stunde lang im Dampftopf erhitzt. Bei neutraler Reaktion scheidet sich dabei basisches Ferriazetat ab, welches beim Absetzen alle suspendierten Partikeln mitreifst. Das essigsaure Eisen wird jedesmal unmittelbar vor dem Gebrauch bereitet. Für 10 l Wasser ist nach Rubner[1]) 80 ccm eines Gemisches aus gleichen Teilen 8proz. Eisenchloridlösung und einer äquivalenten Menge von essigsaurem Natron genügend.

Wir bearbeiteten 4—5 l Wasser mit essigsaurem Eisen und entfernten nach vollständigem Absetzen des Niederschlages den gröfsten Teil der klaren Flüssigkeit mit Hilfe eines Hebers. Die zurückgebliebene Flüssigkeit, zusammen mit dem Sediment, zentrifugierten wir ab und gossen die klare Flüssigkeit nochmals möglichst vollständig vom Sediment ab. Das Sediment sammelten wir alsdann auf einem kleinen Filter; dasselbe wurde zusammen mit dem Sediment in einen Verbrennungskolben übertragen und nach Zusatz von 8—10 ccm konzentrierter Schwefelsäure und

1) Arch. f. Hygiene, Bd. XLVI, S. 31.

1 g schwefelsaurem Kali erhitzt. Das Erhitzen wurde bis zur vollständigen Entfärbung fortgesetzt. Das Verbrennen vollzieht sich sehr langsam und erfordert zuweilen sechs und mehr Stunden. In solchen Fällen ist es notwendig, ein- oder zweimal je 4 ccm Schwefelsäure zuzusetzen. Nach Beendigung der Verbrennung wird der Kolbeninhalt wie bei der Bestimmung der Gesamtmenge des Stickstoffes im Wasser weiter behandelt. Das Eisen fällt dabei in Form eines reichlichen rotgrauen Niederschlags aus. Von der, auf diese Weise festgestellten Stickstoffmenge wird der Stickstoffgehalt des Filters, welcher vorher bestimmt werden mufs, abgezogen.

Die Bakterien gehen quantitativ in die Eisenfällung über. Da man recht gut Wassermengen bis zu 20 l zur Analyse der suspendierten Teile benutzen kann, so kann man eine Schätzung darüber anstellen, ob und inwieweit man bei bakteriellen Verunreinigungen die letzteren in der Analyse zum Ausdruck kommen lassen kann. Nach Rubner entspricht 0,1 mg N 34500000000 Individuen von bact. proteus vulg. 0,03 mg N lassen sich sehr wohl durch diese neue N-Bestimmungs-Methode auffinden. = 1035000000 Bakterien.

Bei 20 l Wasser trifft auf 1 l 56700000 Bakterien, auf 1 ccm 56700 Keime.

Dieser Zuwachs wäre also bestimmt nachzuweisen, darunter erhält man auch noch Ausschläge, aber sie sind mit weniger Genauigkeit festzustellen. Daraus folgt, dafs wie mit der chemischen Methode bereits sehr nahe an die Bestimmungsgrenze mäfsiger Bakterienzahlen herankommen, wenn man berücksichtigt, dafs Poleck noch 0,002 und 0,001 NH_3, ja 0,0005 für mefsbar hält. Nehmen wir auch nur 0,001 g **N** (nicht NH_3) als Grenze, so wäre dies $^1/_{30}$ der obigen Bakterienzahl also pro 1 ccm

= 1890,

was einem mäfsigen Gehalt von Brunnenwasser entspricht. Vorläufig stehen aber noch einige Schwierigkeiten der technischen Durchführung solch diffiziler Versuche entgegen.

Nachstehend habe ich meine Resultate tabellarisch zusammengestellt.

Tabelle 2.

Woher ist das Wasser entnommen?	Der Stickstoffgehalt in 1 l des Wassers		
	Gesamtmenge	in Form von NH_3	in suspendiert. Stoffen
I. Berlin. Leitungswasser	0,58 mg	nicht bestimmbar	0,108 mg
	0,59 »		0,104 »
II. Berlin. Leitungswasser	0,53 »		—
	0,56 »		—
III. Charlottenburg. Leitungswasser.	0,51 »	—	0,100 »
	0,54 »	—	—
IV. Spreewasser 1. in Berlin . .	2,10 »	1,04 mg	0,4 »
	2,11 »	—	—
	2,16 »	—	—
2. in Charlottenburg . . .	1,88 »	0,77 »	0,44 »
	1,88 »		0,446 »
	1,87 »		
	1,92 »		
V. Pankewasser (währ. d. starken Frostes) . . .	2,55 »	1,44 »	0,474 »
	2,56 »		
VI. Pankewasser (Hochwasser) .	11,76 »	6,42 »	2,11 »
	11,10 »		
VII. Brunnenwasser in Berlin . . .	0,96 »	0,95 »	0,03 »
	0,94 »		
VIII. Brunnenwasser in Spandau . .	5,8 »	5,6 »	0,086 »
	6,0 »		0,087 »

Aus diesen Grundzahlen läſst sich dann betreffs des Vorkommens von organisch gebundenem Stickstoff nähere Auskunft geben.

Tabelle 3.

Milligramm im Liter.

	Organisch geb. Stickstoff	NH_3 präformiert	Suspendierter Stickstoff	Stickstoff in Summe
Leitungswasser von Berlin	0,45	0	0,108	0,560
Leitungswasser von Charlottenburg	0,41	0	0,100	0,510
Brunnenwasser von Berlin	0	0,950	0,03	0,98
Brunnenwasser von Spandau	0,12	5,60	0,08	5,90
Spreewasser (oberhalb Berlin)	0,68	1,04	0,400	2,12
Spreewasser von Charlottenburg	0,65	0,77	0,440	1,86
Panke (niedriger Wasserstand)	0,61	1,44	0,47	2,55
Panke (Hochwasser) . .	2,90	6,42	2,11	11,43

Diese Versuche wurden zu dem Zwecke vorgenommen, um festzustellen, in wie weit unsere Methode zur Untersuchung verschiedener Wasserarten verwendbar ist. Sie sind daher nicht so weit vollständig und systematisch durchgeführt, dafs man aus ihnen einen Schlufs über den Einflufs der Stadt Berlin auf die Verunreinigung seiner Flüsse ziehen könnte. Es mufs noch bemerkt werden, dafs fast alle Untersuchungen während der starken Winterfröste, als die Flüsse Spree und Planke mit Eis bedeckt waren, ausgeführt wurden. Aufserdem ist zu erwähnen, dafs das Wasser aus der Planke am Montag um 8 Uhr des Morgens entnommen wurde, d. h. zu einer Zeit, wo der gröfste Teil der längs dieses Flusses liegenden Fabriken im Laufe von 24 Stunden vorher nicht gearbeitet hatte. Einmal wurde das Wasser der Panke während des Frühlingstauwetters bei hohem Wasserstande untersucht (Versuch 5).

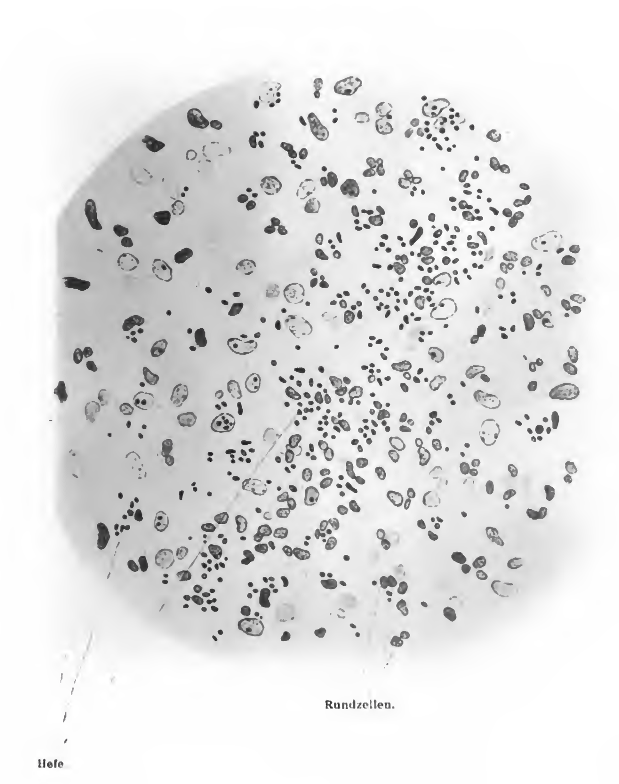
Aus diesen Versuchen können folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Bei kleinstem Stickstoffgehalte im Wasser (0,5 bis 2,56 mg im Liter) ist der Fehler unserer Methode nicht gröfser als 0,02—0,05 mg.
2. Das Berliner Leitungswasser enthält 0,55—0,6 mg Stickstoff im Liter, Charlottenburger etwas weniger: 0,51 bis 0,54 mg. Der Stickstoffgehalt der suspendierten Partikeln ist in beiden annähernd gleich und beträgt 0,1 mg im Liter.
3. Die Analysen des Wassers der Flüsse Spree und Panke ergaben einen vier- bis fünfmal gröfseren Gesamtstickstoffgehalt als das Leitungswasser, wobei der gröfste Teil des Stickstoffes in Form von Ammoniak und ungelöster suspendierter Stoffe sich befindet. Während des Hochwassers stieg der Stickstoffgehalt der Panke von 2,55 bis 11,7 mg im Liter. Dabei war auch eine relativ starke Vermehrung des Stickstoffes in Form von organischen Verbindungen festzustellen.
4. Im Brunnenwasser ist der Stickstoff fast ausschliefslich in Form von Ammoniak enthalten; während sein Gehalt in Form von suspendierten Partikeln so gering ist, dafs er die Fehlergrenzen der Methode fast erreicht. Das bezieht sich besonders auf das Wasser, das einem Brunnen in Berlin entnommen wurde, wo die Kanalisation schon längst existiert, und wo folglich der Boden nicht so verunreinigt ist wie in der alten Stadt Spandau, deren Kanalisation erst ziemlich kurze Zeit existiert.

Wenn wir zusammenfassend die Resultate unserer Untersuchungen formulieren, so ergibt sich, dafs unsere Methode zur Bestimmung solcher geringen Mengen von organischen Substanzen, die früher nicht bestimmt werden konnten, vollständig brauchbar ist. Sie kann daher die Lücke, die in der hygienischen Methodik bei der Untersuchung der Verunreinigung der Flüsse

und der Prozesse ihrer Selbstreinigung sich fühlbar machte, mit Erfolg ausfüllen. Aufserdem wird diese Methode auch bei anderen Untersuchungen sicherlich Verwendung finden.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner für die Anregung zu vorliegender Arbeit und Herrn Dr. Nawiasky für die Unterstützung bei Ausführung derselben meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.



Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.

Untersuchungen über die Wachstumsgeschwindigkeit der Typhusbazillen in Galle.

Von

Dr. W. Pies.

(Aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut zu Strafsburg i. Els.)

Schon seit längerem ist es bekannt, dafs beim Typhus abdominalis die Krankheitserreger meist zahlreich und in Reinkultur in der Gallenblase gefunden werden, und dafs sie dort noch monate-, ja jahrelang nach überstandener Krankheit sich erhalten und vermehren können (vgl. hierüber: Forster und Kayser [1]). Dies ist um so auffallender, als es nur verhältnismäfsig selten gelungen ist, das Bacterium coli in der Galle aufzufinden, obwohl dies im allgemeinen geringere Ansprüche an seine Nährböden stellt als das Bacterium typhi.

Dies deutet darauf hin, dafs die Galle u. U. gerade für Typhusbazillen einen besonders günstigen Nährboden bildet. Es lag daher der Gedanke nahe, vermittels der Galle eine Trennung der Typhus- und Colikeime und eine Anreicherung der ersteren im Bakteriengemisch herbeiführen zu können. Im Auftrage von Herrn Prof. Forster habe ich über diese Frage eine Reihe von Untersuchungen angestellt, über die in den folgenden Zeilen berichtet werden soll.

In den letzten 15 Jahren haben verschiedene Autoren die Galle als Nährboden versucht und Untersuchungen mit den

verschiedensten Bakterien angestellt.[1]) Sie verwandten dabei teils die reine, unveränderte Galle, teils dieselbe im Gemische mit Nährsubstraten und gelangten zu sehr widersprechenden Resultaten. So fand Corrado (2) speziell für Typhusbazillen das Wachstum in Galle indifferent, Mosse (3) glaubte der Galle einen entwickelungshemmenden Einflufs zusprechen zu müssen, Lenbuscher (4), Fischer (5), Fränkel u. Krause (6) dagegen betrachten die Galle als einen guten Nährboden für Typhus und Colibazillen.

Um zu einem sicheren Urteil in dieser Frage zu gelangen, halte ich die von den genannten Autoren angewandte Untersuchungsmethode, nämlich den makroskopischen Vergleich der Untersuchungsflüssigkeit mit einer Kontrollflüssigkeit nach bestimmten Zeitabständen, nicht für hinreichend. Vielmehr glaube ich, dafs eine möglichst genaue Methode der Untersuchung erforderlich ist und als solche bietet sich naturgemäfs die Ermittelung der Fortpflanzungsgeschwindigkeit.

Die Vermehrung der Bakterien geschieht durch die Zweiteilung des Zellleibes. Der Zeitraum, innerhalb dessen dieser Vorgang abläuft, wird als Generationsdauer bezeichnet. Da nun die Vermehrung eines Bakteriums bei sonst gleichen Wachstumsbedingungen je nach der Güte des Nährbodens schneller oder langsamer verläuft, so mufs sich auch die Generationsdauer in proportionaler Weise ändern. Die Vermehrungsintensität drückt sich also zahlenmäfsig in dem entsprechenden Generationsdauerwerte aus. Das kulturelle Verhalten eines Bakteriums läfst aber deutlich erkennen, dafs die Vermehrung auf jedem Nährboden mit zunehmender Schnelligkeit einsetzt, einen Höhepunkt erreicht, um dann langsam abzunehmen und schliefslich nach Erschöpfung oder Veränderung des Nährbodens ganz aufzuhören. Es ist also die Vermehrungsintensität in jedem Zeitpunkt eine verschieden starke, die ihren stärksten Grad erreicht hat, sobald die Generationsdauer am kürzesten geworden ist. Die Bestimmung dieser kürzesten Generationsdauerwerte gibt mithin einen ver-

1) Näheres hierüber findet sich in meiner, Dezember 1906 der Medizinischen Fakultät der Universität zu Strafsburg eingereichten Inaugural-Dissertation. Strafsburg 1907.

gleichenden Mafsstab für die Wachstumsintensität in den verschiedenen Nährböden.

Von diesem Gedanken ausgehend, gewähren die später folgenden Tabellen einen genauen Einblick in das Wachstum der Typhusbazillen in reiner Galle und in den mit Zusätzen versehenen Gallenflüssigkeiten. Zum Vergleiche wurden meist dieselben Versuche daneben auch für Bakterium coli durchgeführt.

Von den verschiedenen Verfahren der Generationsdauerbestimmung wurde als die genaueste die von Buchner-Longard-Riedlin (7) im Prinzip angegebene, im hiesigen Institute von Max Müller (8) modifizierte und verbesserte Methode gewählt.

Um aus einer relativ geringen Menge (5 ccm) eines flüssigen Kulturmediums eine gröfsere Anzahl von Zählplatten anfertigen zu können, ohne die Kulturflüssigkeit wesentlich zu verringern, werden geeichte Spiralen und Ösen zur Plattenanlage verwendet. Da diese Spiralen und Ösen, deren Fassungsvermögen zeitweise nachkontrolliert, konstant dieselben Mengen fassen, so ermöglicht ihre Anwendung nicht nur eine Materialersparnis der Kultur, sondern auch eine äufserst genaue Zählung der in dieser Menge vorhandenen Bakterien. Durch Überimpfen immer kleiner werdender Kulturmengen auf die Zählplatten, können möglichst genaue zählbare Platten erhalten werden. Auf diese Weise wird gleichzeitig die durch die Verdünnungsmethode entstehende Fehlerquelle solange als möglich vermieden. Nach einer gewissen Zeit wird aber selbst die kleinste Öse eine so dicht besäte Platte geben, dafs eine annähernd genaue Zählung nicht mehr möglich ist. Infolgedessen ist nun eine Verdünnungsmethode nicht mehr zu umgehen. Die kürzeste Generationsdauer ist übrigens in diesem Zeitpunkt meist schon überschritten und die Bakterienzahl so stark angewachsen, dafs bei der Berechnung einige zehntausend Bakterien mehr oder weniger im Kubikzentimeter nicht ins Gewicht fallen. Die durch die Verdünnungsmethode entstehende Fehlerquelle wird auf folgende Weise nach Möglichkeit reduziert:

1. Es wird eine relativ grofse Menge der Kultur (34—9 mg) in das Verdünnungsmedium übergeimpft;

2. Um eine kräftige Durchmischung der Verdünnungsflüssigkeit vornehmen zu können, wird als solche Nährbouillon verwandt;
3. Die Zählplatte wird wiederum mit grofser Menge (34 bis 9 mg) der geimpften Verdünnungsflüssigkeit angelegt;
4. Die Verdünnungsflüssigkeit wird vor der Impfung genau mittels sterilisierter graduierter Pipette in ein steriles Reagenzglas abgemessen.

Verwendet wurden zu allen Untersuchungen drei Spiralen mit einem Fassungsvermögen von 95 mg, 17 mg und 9 mg, sowie die Normalöse von 2 mg. Als Zählplatten wurden, da ich nur mit nicht verflüssigenden Kolonien zu tun hatte, nicht Gelatineplatten mit Petrischen Schalen, sondern die bereits von Max Müller(8) zu diesem Zweck verwandten Esmarchschen Gelatinerollplatten angefertigt. Über die Vorteile dieser Methode, sowie über die Methodik der Zählung der Gelatinerollröhrchen enthält Näheres die gleiche Arbeit. Um die gefundenen Resultate vergleichen zu können, bedarf es der Umrechnung sämtlicher Werte auf ein gleiches Volumen, und zwar am besten auf 1 ccm. Die Berechnung der Generationsdauer erfolgte dann nach der Buchner-Longard-Riedlinschen(7) Formel

$$x = \frac{t \cdot \log 2}{\log b - \log a}$$

wobei t die Zeit angibt, a die Zahl der Kolonien der »primären« Platte und b die der »sekundären« Platte.

Um nun das Wachstum und die kürzeste Generationsdauer unter sonst gleichen Bedingungen bei verschieden grofser Impfmenge feststellen zu können, verfuhr ich auf folgende Weise: Von einer ca. 14stündigen, bei 37,5° C gewachsenen Bouillonkultur von Bacterium typhi oder coli wurden mit sterilen Pipetten 5 Verdünnungen hergestellt, und zwar:

1.	1,8 ccm reine Bouillon	+ 0,2 ccm		Kultur	= 2,0 ccm	$^1/_{10}$	Kultur
2.	1,8 » » »	+ 0,2 »	$^1/_{10}$	»	= 2,0 »	$^1/_{100}$	»
3.	1,8 » » »	+ 0,2 »	$^1/_{100}$	»	= 2,0 »	$^1/_{1000}$	»
4.	1,8 » » »	+ 0,2 »	$^1/_{1000}$	»	= 2,0 »	$^1/_{10000}$	»
5.	1,8 » » »	+ 0,2 »	$^1/_{10\,000}$	»	= 2,0 »	$^1/_{100\,000}$	»

Von Verdünnung 2, 3 und 4 wurde zunächst, um die Zahl der ausgesäten Keime zu kennen, je ein mit 2 mg beimpftes Zählröhrchen angefertigt, und von Verdünnung 5 ein ebensolches mit 4 mg. Dann wurden aus den verschiedenen Verdünnungen die gleichen Mengen in die zu verwendenden »Gallenröhrchen« übergeimpft. Diese wurden dann in einen Brutofen von 37,5° C gestellt und nach je 2 Stunden mit progressiv kleiner werdenden Mengen Gelatinerollröhrchen angelegt. Die Versuche wurden auf 10 Stunden ausgedehnt, da sich ergab, dafs die kürzeste Generationsdauer für Typhus und Coli bei stärkerer Impfmenge innerhalb dieser Zeit gelegen ist. Dann wurde noch nach 24 Stunden eine Probe entnommen, um die weitere Entwickelung der Kulturen zu beobachten.

Tabelle V gibt die Versuchsanordnung in ausführlicher Weise wieder. In den übrigen Tabellen sind nur die einer näheren Betrachtung zu unterziehenden Werte angegeben.

Zunächst wurden Versuche gemacht mit reiner, sterilisierter Rindergalle, wie sie an der Typhusstation des hygienisch-bakteriologischen Instituts in Strafsburg zur Züchtung von Typhusbazillen aus dem Blute von Erkrankten verwendet wird. ([18]) Diese Rindergalle wird, frisch der Gallenblase entnommen, im strömenden Dampf $^1/_2$ Stunde sterilisiert, dann filtriert, in sterile Reagenzgläser zu je 5 ccm abgefüllt und wieder $^1/_2$ Stunde im strömenden Dampf sterilisiert.

Tabelle I.
Bacterium typhi in 5 ccm sterilisierter Rindergalle.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{10}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 2 mg $^1/_{10000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm Galle			
zu Anfang:	6720	75	8
nach 2 Stunden:	4758	95	steril
» 4 »	6147	158	»
» 6 »	6380	158	»
» 8 »	3621	63	»
» 10 »	2221	31	»
» 24 »	463	steril	»

Tabelle II.

Bacterium coli in 5 ccm sterilisierter Rindergalle.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{10}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 2 mg $^1/_{10000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm Galle			
zu Anfang:	25 900	228	26
nach 2 Stunden:	12 500	210	21
» 4 »	20 660	353	52
» 6 »	93 000	1 000	165
» 8 »	423 000	4 500	500
» 10 »	1 611 000	15 500	2 000
» 24 »	24 333 000	29 889 000	32 775 000

Generationsdauer in Minuten.

	Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.
Von 0—2 Stunden:	—	—	—
» 2—4 »	166'	160'	92'
» 4—6 »	55'	80'	72'
» 6—8 »	55'	55'	75'
» 8—10 »	62'	67'	60'
» 10—24 »	214'	77'	60'

Der Versuch mit Bakterium typhi wurde in 12 Versuchsreihen mit den verschiedensten Impfmengen angestellt. Es konnte niemals ein Wachstum konstatiert werden, dagegen stets eine langsame Abnahme und Abtötung der Keime. Nach der 4. bis 6. Stunde zeigte sich regelmäfsig eine geringe Zunahme, die wohl auf eine letzte Zweiteilung der widerstandsfähigsten Keime zurückzuführen ist. Röhrchen mit 2 mg $^1/_{10000}$ Kultur oder etwa 8 bis 13 Keimen pro ccm liefsen schon nach 2 bis 4 Stunden bei Überimpfung von 95 mg in Gelatine keine Kolonien mehr zur Entwicklung kommen. Es beweist dies, dafs die reine, sterilisierte Galle nicht nur keinen guten Nährboden für Bakterium typhi darstellt, sondern dafs sie sogar ausgesprochen entwicklungshemmend wirkt. Zu demselben Resultate gelangte Dr. Fornet(9) bei seinen Untersuchungen über die Bakterizidie der Galle. Er konnte diese Eigenschaft der Galle dem Bacterium typhi gegen-

über sowohl für sterilisierte als auch für frische Rindergalle feststellen.

Ganz anders verhält sich die sterilisierte Galle gegen Bacterium coli. Es wurde in 9 Versuchsreihen stets Wachstum erzielt, auch wenn die Gallenröhre mit nur 2 mg $^1/_{100000}$ Kultur oder etwa 2 Keimen pro ccm beimpft wurde. Wenn die sterilisierte Galle auch kein guter Nährboden für Bacterium coli ist, in Anbetracht einer kürzesten Generationsdauer von 55', so ist doch sicher, dafs sie ihm gegenüber keine bakteriziden Eigenschaften besitzt.

Nachdem es mir gelungen war, frische sterile menschliche Galle zu erhalten, wurden auch damit Versuche angestellt. Bei der Entnahme verfuhr ich nach der von Fränkel und Krause (6) empfohlenen Methode: Die Gallenblase wird bei der Sektion nach vorherigem Unterbinden des ductus choledochus von der Leber abgetrennt, in fliefsendem Wasser abgewaschen, 3 Minuten in Sublimat (5 : 1000) gebracht und bis zur definitiven Verarbeitung in steriles Wasser gelegt. Dann wird der Fundus der Gallenblase über der Bunsenflamme abgesengt, mit steriler Punktionsspritze an dieser Stelle die Galle entnommen und in sterile Reagenzgläser zu 5 ccm abgefüllt. Hierauf stellte ich einerseits die Sterilität der Galle fest durch Überimpfen einer verhältnismäfsig grofsen Menge (95 mg) in Bouillon und Gelatine, anderseits prüfte ich, ob Sublimatlösung durch die Blasenwand diffundiert wäre, indem jedesmal sofort ein Gallenröhrchen mit 4 mg einer frischen Typhusbouillonkultur beimpft, dann in den Brutschrank gestellt und nach 6 Stunden mehrere Ösen auf einer Endo-Agarplatte ausgestrichen wurden. Letztere zeigte nach 24 Stunden dann zahlreiche typische Kolonien.

Die Galle stammte einmal von einer 50 jährigen Frau, die an Lungenembolie infolge Thrombose der Vena femoralis gestorben war, das 2. Mal von einem 30 jährigen Arbeiter, der durch ausströmenden Dampf verbrüht war. Sie konnte im ersten Falle 20, im zweiten 18 Stunden post mortem entnommen werden. Eine dritte Galle stammte von einer 42 jährigen Frau, Todes-

ursache akute Myocarditis; die Entnahme erfolgte 25 Stunden post mortem.

Für die gütige Überlassung des Materials spreche ich Herrn Prof. v. Recklinghausen meinen verbindlichsten Dank aus.

Es zeigte sich nun, dafs sowohl Typhus- als auch Colibazillen nicht in allen Fällen in der frischen menschlichen Galle sich vermehren. Entsprechend den Angaben in Tabelle III wurde in 6 Versuchsreihen bei Typhus und in ebensovielen bei Colibazillen eine schnelle Abnahme der Keime beobachtet. In 6 weiteren Versuchen mit anderer Galle, und zwar von Fall 2 und 3 ergab sich Wachstum, und zwar war dasselbe wieder in beiden Gallen verschieden, wie Tabelle IV erkennen läfst. Es legte diese Beobachtung den Gedanken nahe, dafs die Zusammensetzung der verschiedenen Gallen hierbei eine Rolle spielte.

Tabelle III.
Bacterium typhi und Bacterium coli in 5 ccm frischer Menschengalle.

Eingeimpfte Menge:	Bacterium typhi 2 mg Kultur	Bacterium coli 2 mg Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm Galle zu Anfang:	139 200	332 400
nach 2 Stunden:	19 760	426 300
» 4 »	1 042	22 730
» 6 »	325	7 210
» 8 »	125	4 084
» 10 »	52	2 242
» 24 »	10	95

Tabelle IV.
Bacterium typhi in 5 ccm frischer Menschengalle.

Eingeimpfte Menge:	Galle von Fall 2. 2 mg $^1/_{100}$ Kultur	Galle von Fall 3. 2 mg $^1/_{10000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm Galle zu Anfang:	1 392	12
nach 2 Stunden:	7 390	31
» 4 »	27 160	390
» 6 »	61 900	4 352
» 8 »	119 370	45 463
» 10 »	221 000	463 700
» 24 »	unzählbar.	unzählbar.

Generationsdauer.

	Galle 2.	Galle 3.
Von 0—2 Stunden:	50'	88'
» 2—4 »	64'	33'
» 4—6 »	101'	34'
» 6—8 »	127'	35'
» 8—10 »	135'	36'

Den Hauptbestandteil der Galle bilden die Glykochol- und die Taurocholsäure, und zwar finden sich diese beim Menschen in sehr wechselndem Verhältnis, stets aber prävaliert die Glykocholsäure. Zu den spezifischen Gallenbestandteilen gehören ferner die Gallenfarbstoffe, das Bilirubin und das Biliverdin. Je nach dem Überwiegen des einen oder anderen und je nach der Menge derselben ist die Galle gelb, braun oder grün gefärbt. Aufserdem enthält die Galle stets noch Seifen, Lecithin und Cholesterin, letzteres gelöst durch die Seifen und gallensauren Salze. Schliefslich gehört noch zu den konstanten Gallenbestandteilen das Mucin, eine Verbindung von Eiweifs mit einem kolloidalen Kohlehydrat, das von den Epithelzellen der Gallenwege und insbesondere der Gallenblase abgesondert wird. Dafs diese einzelnen Bestandteile in äufserst wechselnden Mengen in der menschlichen Galle enthalten sind, veranschaulicht sehr gut eine von Bunge ([10]) zusammengestellte Tabelle. Dieser Unterschied ist schon bei möglichst normaler Galle (Material stammt von Hingerichteten) auffallend, noch gröfser aber in dem bei Sektionen entnommenen Material.

Ohne Zweifel ist nun die Zusammensetzung der Galle von gröfster Bedeutung für das Wachstum der eingeimpften Bakterien, und nur so kann ich das ungleiche Verhalten der Typhus- und Colikeime in den verschiedenen Gallen erklären.

Talma ([11]) studierte am lebenden Tiere den Einflufs der Galle auf Typhus- und Colibazillen durch Einspritzen derselben direkt in die möglichst wenig verletzte Gallenblase. Er konstatierte im allgemeinen eine hemmende Wirkung der Galle, die jedoch zu verschiedenen Zeiten und bei verschiedenen Tieren ungleich

war, also offenbar je nach der Zusammensetzung der Galle mehr oder weniger sich geltend machte.

Für die Beurteilung der Wachstumsverhältnisse in der Galle innerhalb des menschlichen Organismus, scheint mir die Beobachtung von gröfster Bedeutung, dafs in den zahlreichen Fällen, wo Typhusbazillen in der Galle gefunden wurden, die Galle oder die Gallenblase pathologische Veränderungen zeigte.

Chiari (12) fand bei 19 in bezug auf den Nachweis von Typhusbazillen in der Gallenblase positiven Fällen 13 mal eine Entzündung der Gallenblase. Sie stellte sich dar als eine mehr oder weniger stark entwickelte leukozitäre Infiltration der Mucosa, kombiniert mit Hyperämie und Ödem. Das Epithel war gröfstenteils defekt. Von den übrigen 6 positiven Fällen zeigten 3, bei denen die Gallenblase überhaupt untersucht wurde, Nekrose der inneren Lage der Mucosa. Die Galle war bei allen positiven Fällen getrübt, graugelb oder weifslich-schleimig oder hellgelbflockig und enthielt bei mikroskopischer Betrachtung viele Epithelien und Leukozyten. Prof. Forster und Kayser (1) fanden in 7 Fällen mit Typhusbazillen in der Galle stets die Galle abnorm: bald schleimig gelb, fast eitrig, dann wieder körnig trüb, schmutzigbraun oder dunkelgrün und sehr zäh. Stets sahen auch sie entzündliche Formelemente darin. Dieselben Befunde hatte Dörr (13) bei Tierversuchen. Bei Kaninchen, die mit je zwei Ösen lebender 24 stündiger Typhusagarkultur intravenös injiziert und nach verschiedenen Zeiträumen getötet wurden, fand er schon am 2. Tage nach der Injektion die Galle pigmentfrei, von Eiterflocken durchsetzt, die Blase ausgedehnt, die Wand verdickt. Diese Cholecystitis fand sich auch bei den Tieren, die am 4., 7., 10., 14., 21., 33. und 40. Tage getötet wurden, nicht aber mehr am 54. und 100. Tage, und in letzterem Falle waren auch die Typhusbazillen verschwunden.

Dagegen waren dieselben noch vorhanden bei einem Tiere nach 120 Tagen, und hier zeigten sich, wie bei den anderen Tieren, pathologische Veränderungen der Gallenblase und ihres Inhaltes. Dörr schliefst hieraus, dafs sich die Invasion der Typhuskeime in die Gallenblase wohl niemals ohne entzündliche

Reaktion der Mucosa zu vollziehen scheint, und nimmt an, dafs die vermehrte Absonderung des Schleimhautsekretes, die Auswanderung von Leukozyten, kurz alle durch die Entzündung hervorgerufenen Veränderungen der Galle selbst, begünstigend und fördernd auf das Wachstum der Typhusbazillen einwirken. Wie der folgende Versuch erkennen läfst, zeigte eine derartige Veränderung der Galle wenigstens aufserhalb des Körpers für die Entwicklung der Typhusbazillen einen auffallenden Unterschied gegenüber dem Wachstum in nicht veränderter, frischer Galle.

Es wurden zu drei Röhrchen mit je 5 ccm frischer menschlicher Galle, in der vorher kein Wachstum erfolgt war, je 1 ccm eines serös-eitrigen Exsudats hinzugefügt und hierauf die Röhrchen mit verschiedenen Mengen einer ca. 14 stündigen Typhus-Bouillonkultur geimpft.

Das serös-eitrige Exsudat hatte ich auf folgende Weise gewonnen: Einem Kaninchen wurden 5 ccm einer Aleuronatlösung (auf 40 ccm 0,8% Kochsalzlösung 6 g Aleuronat, 1 Stunde sterilisiert bei 120°) intrapleural injiziert. Nach 48 Stunden konnte dann, nachdem das Kaninchen verblutet war, das Exsudat steril entnommen werden. Die Versuchsanordnung ist aus der ausführlich angeführten Tabelle ersichtlich.

Aus der Tabelle V geht nun deutlich hervor, dafs die wachstumhemmende Wirkung, die in dieser Galle ursprünglich vorhanden war, durch den Zusatz des serös-eitrigen Exsudats vollständig aufgehoben wurde, und es zeigte sich jetzt diese Gallenflüssigkeit für die Entwickelung der Typhusbazillen als ein aufserordentlich günstiger Nährboden. Wurden doch bereits nach 24 Stunden Werte erreicht, wie sie Hehewerth [14] bei seinen Generationsdauerbestimmungen von Typhusbazillen erst nach 36 Stunden und später feststellen konnte. Es ist nun nach dem oben Gesagten sehr gut denkbar, dafs innerhalb des Organismus durch die Invasion der Typhuskeime, welche das Blut während des Fiebers durch Vermittlung der Leber in die Galle liefert (cf. Literatur 1 u. 18), ähnliche günstige Wachstumsbedingungen in der Gallenblase geschaffen werden wie hier, und dafs darauf die Vermehrung der Keime zurückzuführen ist.

Tabelle V.

Bacterium typhi in 5 ccm frischer Menschengalle + 1 ccm serös-eitrigen Exsudats.

Versuchsreihe I.

Eingeimpfte Menge: 2 mg $^1/_{10}$ Kultur.

Überimpfte Menge:	Größe des gezählten Feldes	Zahl der Kolonien im Felde	Zahl der Kolonien der Platte	Bakterienzahl in 1 ccm	Zeit nach der Impfung
—	—	—	—	z. Anf.: 11 040	—
17 mg	ganz	1 054	1 054	62 000	2 Stdn.
2 mg	»	864	864	432 000	4 »
2 mg	$^9/_{100}$ qcm	20	13 330	6 660 000	6 »
17 mg : 1,7 ccm Bouillon — 17 mg	$^9/_{100}$ »	19	12 666	74 510 000	8 »
do. — 17 mg	$^1/_{25}$ »	28	42 000	247 060 000	10 »
7 mg : 4,5 ccm Bouillon — 9 mg	$^1/_{25}$ »	17,1	25 650	1 425 000 000	24 »

Versuchsreihe II.

Eingeimpfte Menge: 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur.

Überimpfte Menge:	Größe des gezählten Feldes	Zahl der Kolonien im Felde	Zahl der Kolonien der Platte	Bakterienzahl in 1 ccm	Zeit nach der Impfung
—	—	—	—	zu Anf.: 107	—
95 mg	ganz	66	66	695	2 Stdn.
95 »	»	423	423	4 452	4 »
95 »	$^1/_4$ qcm	24	5 760	60 630	6 »
9 »	$^1/_{25}$ »	7,8	11 700	1 300 000	8 »
2 »	$^1/_{25}$ »	18	27 000	13 500 000	10 »
9 mg : 4,5 ccm Bouillon — 9 mg	$^1/_{25}$ »	16,7	25 050	1 391 600 000	24 »

Versuchsreihe III.

Eingeimpfte Menge: 4 mg $^1/_{100\,000}$ Kultur.

Überimpfte Menge:	Größe des gezählten Feldes	Zahl der Kolonien im Felde	Zahl der Kolonien der Platte	Bakterienzahl in 1 ccm	Zeit nach der Impfung
—	—	—	—	z. Anfang: 3	—
95 mg	ganz	1,5	1,5	16	2 Stdn.
95 »	»	13	13	137	4 »
95 »	»	116	116	1 221	6 »
95 »	$^1/_4$ qcm	11	2 650	27 900	8 »
95 »	$^1/_{25}$ »	22,3	33 497	352 630	10 »
9 mg : 4,5 ccm Bouillon — 9 mg	$^1/_{25}$ »	12,7	19 050	1 058 333 000	24 »

Generationsdauer.

	Versuchs-reihe I.	Versuchs-reihe II.	Versuchs-reihe III.
Von 0—2 Stunden:	48′	44′	50′
» 2—4 »	43′	45′	39′
» 4—6 »	30′	32′	38′
» 6—8 »	34′	27′	27′
» 8—10 »	69′	36′	33′
» 10—24 »	332′	126′	73′

Bei den folgenden Versuchen verwandte ich stets wieder sterilisierte Rindergalle, und zwar mit Zusätzen von Nährstoffen. Es ergab sich nun die bemerkenswerte Erscheinung, dafs auch hierdurch die wachstumhemmende Wirkung der Galle beseitigt werden konnte. Ahnliche Beobachtungen hatte Finkh ([15]) in bezug auf Blutserum gemacht. Ihm war es gelungen, durch Zusatz von Nährstoffen, Pepton, Pepton- und Traubenzucker, für Bacterium typhi speziell von Kalisalpeter, die bakterizide Wirkung des Normalserums vollständig zum Verschwinden zu bringen, in vielen Fällen sogar ein lebhaftes Wachstum der Bakterien zu erzielen. Später hat Kayser ([18]) Blut von normalen und immunisierten Kaninchen (ca. 2,5 ccm) mit Galle zusammengebracht und die bekannte normale und spezifische Blutbakterizidie (gegenüber 2—20 Tyhphuskeimen) paralysieren können.

In neuester Zeit wurde dann von Conradi ([16]) die Beobachtung gemacht, dafs auch bei Zusatz von 0,1 bis 1,0 ccm Galle zur gleichen Menge aktiven Normalserums lebhaftes Wachstum der Typhusbazillen eintrat, während nach Angabe dieses Autors schon 0,3 ccm normales Meerschweinchenserum ca. 20000 Typhusbazillen binnen 2 Stunden bei 37° abtöten.

Ich selbst habe eine Reihe von Versuchen mit frischem Kaninchenserum gemacht, und zwar fügte ich zu 5 ccm Galle 1 ccm Serum. Wie aus Tabelle VI zu erfahren ist, besitzt dieser Nährboden aufserordentlich günstige Bedingungen für die Entwickelung der Typhusbakterien.

Da nun zweifellos das wenig verdünnte Normalserum eine hohe bakterizide Eigenschaft besitzt, dieselbe aber, wie aus

meinen ersten Versuchen hervorgeht, in nicht unbedeutendem Mafse auch der Galle zukommt, so ist anzunehmen, dafs im Gemische dieser beiden Flüssigkeiten eine Neutralisierung der bakteriziden Kräfte eintritt, und dafs durch die im Serum enthaltenen, reichlichen Nährstoffe das lebhafte Wachstum der eingeimpften Bakterien unterhalten wird.

Tabelle VI.

Bacterium typhi in 5 ccm sterilisierter Rindergalle + 1 ccm frischen Kaninchenserums.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I 2 mg $^1/_{10}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 4 mg $^1/_{100\,000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm zu Anfang:	9 040	112	3
nach 2 Stunden:	7 823	147	—
» 4 »	39 000	1 790	21
» 6 »	610 000	18 310	358
» 8 »	8 230 000	127 000	4 095
» 10 »	23 047 000	595 260	19 580
» 24 »	32 555 000	40 111 000	38 889 000

Generationsdauer.

	Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.
Von 0—2 Stunden:	—	306′	86′ (0—4)
» 2—4 »	52′	33′	
» 4—6 »	30′	36′	29′
» 6—8 »	32′	43′	34′
» 8—10 »	81′	54′	53′
» 10—24 »	—	138′	77′

In weiteren Versuchen setzte ich der Galle an Nährstoffen zu: fraktioniert-sterilisiertes Blutserum 1 ccm und Löfflersche Nährbouillon 2 ccm auf 5 ccm Galle. Das Resultat zeigen die Tabellen VII und VIII.

Ein Vergleich der Tabellen VI, VII und VIII läfst erkennen, dafs bei Zusatz von ca. 2 ccm Bouillon die günstigsten Wachstumsbedingungen bestehen, indem hier die kürzeste Generationsdauer 26′ beträgt gegen 30′ bei Zusatz von frischem Serum und 40′ bei Zusatz von fraktioniert-sterilisiertem Blutserum. Das

Wachsum der Typhusbazillen gestaltet sich bei Anwesenheit von 2 ccm Bouillon sogar günstiger, als es Müller(19) und Hehewerth (14) bei ihren Generationsdauerbestimmungen in reiner Bouillon konstatierten, so dafs der Galle hier direkt ein entwickelungsfördernder Einflufs zugesprochen werden mufs.

Tabelle VII.

Bacterium typhi in 5 ccm Galle + 1 ccm fraktioniert-sterilisiertes Blutserum.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{10}$ Kultur	Versuchsreihe II. 1 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 4 mg $^1/_{100000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm z. Anfang:	9 840	95	etwa 1
nach 2 Stunden:	28 760	84	—
» 4 »	134 100	325	21
» 6 »	890 000	1 936	102
» 8 »	3 750 000	12 950	668
» 10 »	12 750 000	53 647	5 190
» 24 »	63 055 000	65 250 000	81 444 000

Generationsdauer.

	Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.
Von 0—2 Stunden:	78′	—	} 55′
» 2—4 »	54′	61′	
» 4—6 »	44′	47′	53′
» 6—8 »	58′	44′	44′
» 8—10 »	68′	59′	41′
» 10—24 »	364′	82′	60′

Tabelle VIII.

Bacterium typhi in 5 ccm Galle + 2 ccm Nährbouillon.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{100}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 4 mg $^1/_{100000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm z. Anfang:	790	81	etwa 1
nach 2 Stunden:	1 337	84	—
» 4 »	8 726	105	—
» 6 »	214 700	370	21
» 8 »	4 500 000	1 463	142
» 10 »	z. stark beimpft, unzähl.	9 764	1 221
» 24 »	66 070 000	78 211 000	64 376 000

Generationsdauer.

	Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.
Von 0—2 Stunden:	158′	—	82′ (0—6)
» 2—4 »	44′	373′	
» 4—6 »	26′	66′	
» 6—8 »	27′	61′	43′
» 8—10 »	247′ (8—24)	44′	39′
» 10—24 »		65′	54′

Der Zusatz von 2,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu 5 ccm Galle zeigte sich nicht als hinreichend, das Absterben der Typhusbazillen in Galle völlig zu verhindern. Es ergab sich (cf. Tabelle IX) zunächst in allen Versuchsreihen eine starke Abnahme der Keime, dann ein langsames Ansteigen. Ein mit 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur oder etwa 74 Keimen pro ccm geimpftes »Gallenröhrchen« nahm stetig an Bakterienzahl ab und war nach 24 Stunden steril. Das wenn auch geringe Wachstum in Versuchsreihe I und II glaube ich der gröfseren eingeimpften Bakterienmenge bei verminderter Konzentration der Galle zusprechen zu müssen.

Tabelle IX.

Bacterium typhi in 5 ccm Galle + 2,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{10}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{100}$ Kultur	Versuchsreihe III. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm zu Anfang:	7 232	723	74
nach 2 Stunden:	4 652	579	42
» 4 »	4 537	684	31
» 6 »	4 379	810	31
» 8 »	4 590	831	21
» 24 »	22 100	1 621	steril.

In neuerer Zeit wird die Galle vielfach praktisch verwendet zur Anreicherung der Typhusbazillen aus dem Blut von Erkrankten in den ersten Fiebertagen. Conradi ([17]) verwendet hierzu sterilisierte Rindergalle, der er zur Erhöhung ihrer gerinnungshemmenden und wachstumbegünstigenden Eigenschaft 10% Pepton hinzufügt, aufserdem 10% Glyzerin, um die Entwickelung

störender Saprophyten zu hemmen. Zu dieser Gallenflüssigkeit wird Patientenblut zugesetzt, so dafs sich die Blutmenge zur Gallenflüssigkeit verhält wie 1:3. — Kayser([18]) empfiehlt die reine Galle, ohne jeden Zusatz, und vermischt mit 5 ccm derselben bis zu 2,5 ccm Blut. Nach seiner Angabe gelingt die Anreicherung bei Anwendung von 5 ccm Galle auch aus weniger als 2,5 ccm Typhusblut. Bei der Conradischen wie bei der Kayserschen »Gallenröhre« handelt es sich also im wesentlichen um den Zusatz einer nährstoffhaltigen Substanz, nämlich des Blutes zur Galle. Es war nun von Interesse, die Wachstumsgeschwindigkeit der Typhusbazillen auch für diese beiden praktisch wichtigen Nährböden festzustellen.

Die Conradische Gallenflüssigkeit wurde genau nach Angabe des Autors hergestellt und zu 5 ccm in sterilisierte Reagenzgläser gefüllt. Zu diesen Röhrchen, sowie zu den einfachen Kayserschen Gallenröhrchen mit 5 ccm reiner, sterilisierter Galle wurden 2,5 ccm Blut aus der spritzenden Kaninchenkarotis hinzugefügt. Im weiteren wurde analog den übrigen Versuchen verfahren.

Tabelle X.

Bacterium typhi in der Conradischen Gallenflüssigkeit.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^{1}/_{100}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^{1}/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 2 mg $^{1}/_{10000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm z. Anfang:	413	50	5
nach 2 Stunden:	1 526	312	28
» 4 »	20 530	2 500	267
» 6 »	496 000	26 500	2 920
» 8 »	4 012 000	573 000	32 680
» 10 »	13 027 000	4 836 000	702 000
» 24 »	159 500 000	223 000 000	237 000 000

Generationsdauer.

	Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.
Von 0—2 Stunden:	64'	45'	48'
» 2—4 »	32'	40'	37'
» 4—6 »	26'	35'	35'
» 6—8 »	40'	27'	34'
» 8—10 »	71'	39'	27'
» 10—24 »	232'	152'	100'

Tabelle XI.

Bacterium coli in der Conradischen Gallenflüssigkeit.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{100}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 2 mg $^1/_{10000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm z. Anfang:	1 950	180	22
nach 2 Stunden:	17 500	1 960	415
» 4 »	1 164 000	130 000	18 500
» 6 »	25 000 000	4 992 000	1 020 000
» 8 »	142 000 000	85 500 000	21 075 000
» 10 »	277 000 000	170 500 000	153 000 000
» 24 »	339 000 000	369 500 000	491 500 000

Generationsdauer.

	Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.
Von 0—2 Stunden:	38′	35′	28′
» 2—4 »	20′	20′	22′
» 4—6 »	27′	23′	21′
» 6—8 »	48′	28′	27′
» 8—10 »	124′	120′	42′

Tabelle XII.

Bacterium typhi in der Kayserschen Gallenröhre.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{10}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 4 mg $^1/_{100000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm z. Anfang:	7 860	76	1
nach 2 Stunden:	29 470	245	—
» 4 »	177 900	958	10
» 6 »	1 185 000	3 917	36
» 8 »	14 025 000	18 024	139
» 10 »	121 500 000	96 500	710
» 24 »	225 000 000	214 500 000	z. stark beimpft, unzähl.

Generationsdauer.

	Versuchsreihe I.	Versuchsreihe II.	Versuchsreihe III.
Von 0—2 Stunden:	63′	71′	72′ (0—4)
» 2—4 »	46′	61′	
» 4—6 »	44′	59′	65′
» 6—8 »	34′	54′	61′
» 8—10 »	38′	49′	51′
» 10—24 »	—	76′	—

Tabelle XIII.

Bacterium coli in der Kayserschen Gallenröhre.

Eingeimpfte Menge:	Versuchsreihe I. 2 mg $^1/_{100}$ Kultur	Versuchsreihe II. 2 mg $^1/_{1000}$ Kultur	Versuchsreihe III. 2 mg $^1/_{10000}$ Kultur
Bakterienzahl in 1 ccm z. Anfang:	1 850	140	12
nach 2 Stunden:	16 000	1 500	107
» 4 »	251 000	24 500	1 180
» 6 »	12 066 500	525 000	19 800
» 8 »	284 350 000	28 275 000	395 500
» 10 »	521 400 000	zu stark beimpft.	26 525 000
» 24 »	990 000 000	unzählbar.	unzählbar.

Generationsdauer.

	Versuchs-reihe I.	Versuchs-reihe II.	Versuchs-reihe III.
Von 0—2 Stunden:	39'	35'	38'
» 2—4 »	30'	30'	35'
» 4—6 »	21'	27'	30'
» 6—8 »	26'	21'	28'
» 8—10 »	137'	—	20'

Die Conradische und die Kaysersche »Gallenröhre« sind jedenfalls treffliche Nährböden für Typhus-, allerdings noch in höherem Mafse für Colibazillen. In beiden Nährböden ist der kürzeste Wert für Bacterium coli noch etwa um 2' geringer als Hehewerth(14) ihn in Bouillon konstatierte (22'). Als Ursache für das günstige Wachstum bezeichnet Kayser(18) auf Grund seiner oben erwähnten Versuche eine spezifische, entwickelungsfördernde Wirkung der Galle im Blutgemisch. Conradi(16) hebt dann noch neuerdings hervor, dafs die Galle die bakterizide Wirkung des Blutserums allein, ohne Anwesenheit von Blutkörperchen aufhebt, infolgedessen das Wachstum ermöglicht wird. Nach meinen Versuchen glaube ich, dafs hier neben den genannten Gründen in hohem Mafse die Anwesenheit der im Blutserum enthaltenen reichlichen Nährstoffe für die Vermehrung der Typhusbazillen von Bedeutung ist.

Das Wachstum der Colibazillen gestaltete sich in allen untersuchten Nährböden, sowohl in der reinen, frischen oder sterilisierten

Galle, als auch in der durch irgendwelchen Zusatz veränderten Galle weitaus besser, als das der Typhusbazillen, so dafs die Frage einer Anreicherung der letzteren im Bakteriengemisch mittels Galle als aussichtslos bezeichnet werden mufste. Es dürfte aber diese Beobachtung mit dazu beitragen, die schon von Chiari (12) als wahrscheinlich hingestellte, von Forster und Kayser(1) und von Dörr(13) festgestellte Tatsache zu erhärten, dafs die Typhusbazillen auf dem Wege der Blutbahn in die menschliche Gallenblase gelangen. Denn wenn die Infektion auf aszendierende Weise durch den ductus choledochus erfolgte, dann wäre es unverständlich, warum nicht häufiger in Anbetracht der günstigeren Wachstumsbedingungen das zudem lebhaft bewegliche Bacterium coli in der Gallenblase angetroffen wird.

Literaturverzeichnis.

1. Forster und Kayser. Über das Vorkommen von Typhusbazillen in der Galle von Typhuskranken und »Typhusbazillenträgern«. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 31.
2. Corrado. Sul passagio dei germi patogeni nella bile e nel contenuto enterico e sull'azione che ne risente. Atti della R. Acad. di Roma XVI. 1891. (Zentralbl. f. Bakt., Bd. XI, p. 696.)
3. Mosse. Kommen der Galle fäulniswidrige und antibakterielle Eigenschaften zu? (Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd. 37, p. 527.)
4. Lenbuscher. Einflufs der Verdauungssäfte auf Bakterien. (Zeitschr. f. klin. Medizin 1890, Bd. XVII.)
5. Fischer. Über die Wirkung der Galle auf Typhus- und Milzbrandbazillen. (Inaug.-Dissert. Bonn 1894.)
6. Fränkel und Krause. Bakteriologisches und Experimentelles über die Galle. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskr., Bd. 32, pag. 97.)
7. H. Buchner, K. Longard und G. Riedlin. Über die Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien. (Zentralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. II, p. 1.)
8. Max Müller. Über das Wachstum und die Lebenstätigkeit von Bakterien sowie den Ablauf fermentativer Prozesse bei niederer Temperatur unter spezieller Berücksichtigung des Fleisches als Narungsmittel. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Strafsburg.) (Inaug.-Dissert. Giefsen 1903. Archiv für Hygiene, 47. Bd.)
9. W. Fornet. Über die Bakterizidie der Galle. (Archiv f. Hygiene 1907. 60. Bd., S. 134.)

10. G. v. Bunge. (Lehrbuch der Physiologie des Menschen 1905, p. 249.)
11. Talma. Over de bactericide werking der gal. (Baumgartens Jahresbericht 1900, p. 593.)
12. Chiari. Über das Vorkommen von Typhusbazillen in der Gallenblase bei Typhus abdominalis. (Zeitschr. für Heilkunde, Bd. 15, 1894.)
13. Dörr. Experimentelle Untersuchungen über das Fortwuchern von Typhusbazillen in der Gallenblase. (Zentralbl. f. Bakt. und Parasitenk., Bd. 39, Nr. 5.)
14. Hehewerth. Die mikroskopische Zählungsmethode der Bakterien von Alex. Klein und einige Anwendungen derselben. (Archiv f. Hygiene, Bd. 39, pag. 321.)
15. Finkh. Aufhebung der sogenannten bakteriziden Wirkung des Blutserums durch Zusatz von Nährstoffen. (Zentralbl. f. Bakt. und Parasitenk. Bd. 28, p. 694.)
16. Conradi. Über das Verhalten der im Blute der Typhuskranken nachweisbaren Typhusbazillen gegenüber der bakteriziden Wirkung des Blutes. (Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 28.)
17. Conradi. Verfahren zum Nachweis der Typhuserreger im Blut. (Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 2.) Derselbe. Über die Züchtung der Typhusbazillen aus dem Blute mittels der Gallenkultur. (Münch. med. Wochensch. 1906, Nr. 34.
18. Kayser, H. Über die einfache Gallenröhre als Anreicherungsmittel und die Bakteriologie des Blutes bei Typhus sowie Paratyphus. (Münch. med.Wochenschr. 1906, Nr. 17.) Derselbe: Münch. med.Wochensch. 1906, Nr. 40 und: Zentralbl. f. Bakt. 1906, Bd. 42, pag. 18.
19. M. Müller. Über den Einfluſs von Fiebertemperatur auf die Wachstumsgeschwindigkeit und die Virulenz des Typhusbazillus. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskr., Bd. 20, p. 245.)

Über Ernährungspolyneuritis.

Abwehr gegen Prof. Dr. C. Eykmans Kritik im gleichnamigen Aufsatz. Dies Archiv, Bd. LVII, S. 151.

Von

Dr. G. Grijns.

(Aus dem Geneeskundig Laboratorium zu Weltevreden, Java.)

In seiner höchst interessanten Arbeit über Ernährungspolyneuritis übt Prof. Eykman, Kritik an Versuchen, welche ich vorher[1]) veröffentlicht habe, über das Auftreten der Polyneuritis bei Hühnern, welche mit sterilisiertem Fleische und bei solchen, die mit ungeschältem Reis ernährt wurden. Ich sah damals unter 8 mit sterilisiertem Fleische gefütterten Versuchstieren Polyneuritis entstehen, und zwar waren bei 3 sowohl die klinischen als auch die pathologischen Änderungen unverkennbar; bei 1 wurden wohl die klinischen Erscheinungen beobachtet, der mikroskopische Befund aber war ein negativer; bei 2 wurde mikroskopisch die Diagnose gestellt, während die klinischen Symptome völlig fehlten, und bei 2 war überhaupt keine Polyneuritis entstanden.

In einer anderen Versuchsreihe ernährte ich Tauben mit Fleisch (in allen diesen Versuchen ist Büffelfleisch verwendet worden), das während 2 Tagen mit einigemal erneuertem Wasser ausgekocht war.

1) Mededeelingen uit het Laboratorium voor Pathol. Anat. en Bacteriol. te Weltevreden over 1900. S. 1. Geneesk. Tydschr. v. Ned. Ind. XLI. Heft 1.

Die 4 Versuchstauben starben alle, nachdem sie die deutlichsten Lähmungserscheinungen dargeboten, und in den Nerven, von denen die Ischiadici und die Radiales nach Marchi untersucht wurden, fand ich unzählige aufs schönste degenerierten Fasern. Bei 3 Kontrolltauben wiesen die nämlichen Nerven nur ausnahmsweise entartete Fasern auf.

Eykman nun nährte 3 Hühner mit Pferdefleisch, das 2 Stunden im Autoklaven bei 120° erhitzt war. 2 starben nach 1 bzw. 4 Monaten, das 3. blieb 4 Monate gesund. Keines zeigte klinisch oder mikroskopisch das Krankheitsbild der Polyneuritis.

Eykman meint deshalb die Richtigkeit meiner beiden Versuchsreihen verneinen zu dürfen, und zieht den Schlufs (Seite 166): »Einstweilen glauben wir daher, den schon früher von uns behaupteten Standpunkt noch nicht aufgeben zu müssen, diesen nämlich, dafs Vorbedingung für die Entstehung der Krankheit die Anwesenheit der Stärke ist.«

Dieselbe Art der Schlufsfolgerung findet man auf Seite 160. Eykman bespricht dort meine Beobachtungen an Hühnern, die mit ungeschältem Reis (gabba) gefüttert wurden. Ich traf bei solchen unter vielen, die ich beobachtete, einigemalen Polyneuritis, und zwar bei einigen sowohl klinisch als mikroskopisch unzweideutig. Eykman versucht nun auch diese Beobachtungen zu beanstanden, indem er schreibt: »Die alsdann absichtlich von ihm mit jener Nahrung angestellten Fütterungsversuche gaben kein eindeutiges Resultat. Nur 2 von 4 Versuchshähnen wurden krank und starben, und zwar ohne typische Motilitätsstörungen gezeigt zu haben. Nervendegeneration war in einem Falle reichlich im andern Falle nur sehr sparsam vorhanden.« Eykman übersieht hier die Hühner Nr. 191 und 192, bei denen sowohl Motilitätsstörung als reichliche Nervendegeneration vorhanden war. Weil aber Eykman die Polyneuritis bei Fütterung mit ungeschältem Reis bei seinen Hühnern nie gesehen hat, heifst es nun: »Doch wird man mein Verlangen billigen, dafs, wo in dieser Hinsicht Unsicherheit besteht, die Wahrnehmungen von Grijns erst von anderer Seite bestätigt werden, ehe denselben beim ziehen von Schlufsfolgerungen eine überwiegende Bedeutung

beigemessen wird. Keinenfalls aber wird, meiner Ansicht nach, der Schlufs, wie bei Grijns lauten dürfen, dafs der Zusammenhang zwischen der Krankheit und der Art der Nahrung ein wenig inniger sei.«

(Ich habe geschrieben a. a. O. S. 36 »lange nicht in einem so innigen Zusammenhang steht, wie es anfänglich schien.«)

Ich frage aber wo oder in welcher Hinsicht hier Unsicherheit besteht? Habe ich doch niemals behauptet, dafs die Erkrankung regelmäfsig bei Ernährung mit ungeschältem Reis auftritt, nur dafs ich sie beobachtet habe. Wenn Eykman dazu die Bestätigung von anderer Seite verlangt, so bedeutet das, dafs Eykman sich das Recht anmafst, die Richtigkeit meiner Beobachtungen anzuzweifeln.

Als Eykman in Amsterdam im zoologischen Garten seine ersten Versuche über Ernährung mit geschältem Reis an 6 Hühnern anstellte, fielen die Versuche alle negativ aus. Nachher in Utrecht hatte er mit indischen Hühnern auch keinen Erfolg. Setze man nun den Fall, dafs diese Versuche von einer anderen Person angestellt worden waren, und diese hatte daraus gefolgert, dafs die von Eykman in Batavia gemachten Beobachtungen unsicher seien, und ihnen keine Beweiskraft beizumessen sei. Hätte Eykman eine solche Behauptung gelten lassen? Oder sollte irgend ein ernster Untersucher sich von solcher Beweisführung irreleiten lassen?

Wenn Eykman (S. 157) sagt, »diese Beobachtung wäre wohl geeignet, alles, was sowohl von mir, als auch von Grijns gefunden worden über den Zusammenhang zwischen der Art der Ernährung und der Polyneuritis der Hühner, ins Schwanken zu bringen«, so erklärt dies zwar, weshalb er gerne meine Beobachtungen als unrichtig betrachten möchte, aber mit Theorien bestreitet man keine Tatsachen. Und der Eykmansche Versuch mit den 3 Hühnern, von denen 1 schon nach 1 Monat einer anderen Ursache erlag, die beiden anderen nur 4 Monate bebachtet wurden, ist doch bei zu kurzer Frist und an zu wenig Tieren vorgenommen, um einen so weitgehenden Schlufs daraus zu ziehen. Schrieb doch Eykman früher selber: »Vorher hatten

wir schon gesehen, wie Tiere, welche monatelang bei einer bestimmten Ernährung sich wohl befanden und gediehen, am Ende doch infolge dieser Nahrung von der Krankheit ergriffen werden konnten«.[1]) Dieser Umstand hatte nämlich Eykman früher zu dem später von ihm als unrichtig erachteten Schlufs geführt, dafs das Gekochtsein des Reises das Entstehen der Polyneuritis bedinge. Das hätte zur Vorsicht mahnen sollen. Und etwas weiter liest man: »Nur eine dauerhafte Genesung ist in dieser Hinsicht beweisend.«

Schliefslich mufs ich Einwand erheben gegen Eykmans Darstellung meiner Schlufsfolgerungen aus meinen Versuchen über Kartoffelmehl und Milchzucker. Eykman läfst nämlich bei dem Zitat die ersten in meiner Abhandlung nicht in Kursivschrift gedruckten Worte[2]) »in den in diesem Abschnitte mitgeteilten Versuchen« fort. Ich habe gar nicht versucht, die von Eykman gefundenen Unterschiede »aus der Welt zu schaffen«, wohl aber zu zeigen, dafs auch bei Kartoffelstärke und bei Milchzucker als Hauptnahrung die Polyneuritis auftreten kann, falls man dafür sorgt, dafs keine schützenden Stoffe, es seien beigegebene oder durch Eiweifsmangel aus dem eigenen Körper entnommene, mit ins Spiel kommen.

Eykman hebt nun hervor, dafs in den Phaseolis auch Stärke enthalten ist, und dafs sich aus dieser beim Sterilisieren ein Nervengift (oder eine Verbindung, aus der im Darmtraktus etwa ein Nervengift abgespalten werden könnte) bilden kann. Diese Behauptung habe ich aber widerlegt durch folgenden Versuch: 3 Hähnen, die durch Verfütterung von geschältem Reis erkrankt waren und deutliche Lähmungen aufwiesen, wurden nachher täglich 35 gr sterilisierte Bohnen verabreicht, denen 7 gr frische zugemischt waren. Alle 3 genasen. Dieser Versuch, mit dem ich schon im Juli 1900 angefangen habe, ist zwar noch nicht veröffentlicht, ich habe aber damals Prof. Eykman die Ergebnisse in extenso brieflich mitgeteilt.

1) Jaarverslag 1895, S. 250. Die Übersetzung ist von mir.
2) a. a. O. S. 34.

Man kann also schwerlich in meinen Versuchen mit Kartoffelstärke und Milchzucker die Erkrankung einem Gifte zuschreiben, das in den Bohnen gebildet wird.

Ich habe schon damals ins Licht gestellt, wie unwahrscheinlich eine Annahme ist, nach welcher, aus so grundverschiedenen Substanzen immer wieder dasselbe Gift gebildet werden mufs, und dafs auf der anderen Seite das Gegengift in so sehr verschiedenen Nahrungsmitteln vorrätig sei. Viel einfacher und weniger gezwungen ist die Vorstellung, dafs es in verschiedenen Nahrungsmitteln Stoffe gibt, welche für die Erhaltung des Nervensystems notwendig sind, und deren Entziehung entweder direkt oder durch Aufhebung der Resistenz gegen Krankheitsursachen die Entartung der Nerven bedingt. Diese Stoffe müssen im Pflanzen- und Tierreich sehr ungleichmäfsig verbreitet sein und durch gewisse Umstände z. B. Erhitzung in gespannten Wasserdampf, zersetzt werden.

Pflichtet man dieser Anschauung bei, und gibt man die spezifische Stärketheorie auf, dann platzen weder die Entstehung der Polyneuritis bei Ernährung mit sterilisiertem oder mit ausgelaugtem Fleische noch das Auftreten derselben in vereinzelten Fällen bei Gabbafütterung, noch das Ausbleiben der Krankheit bei auf geschälten Reis gehaltenen Hühnern (vorzugsweise bei Hennen, wie auch Eykman beobachtet hat) wie eine Bombe in unser System. Denn wir wissen, dafs die verschiedenen Individuen derselben Spezies nicht alle die gleichen Stoffwechselbedürfnisse haben. Wir haben das bei der künstlichen Ernährung der Säuglinge so oft erfahren, dafs uns, wenn wir auch das Warum nicht wissen, die Tatsache mehr oder weniger geläufig geworden ist. So nimmt es uns nicht so grofs wunder, wenn auch die Erklärung noch mangelt, dafs bei einer Nahrung, die den meisten Hühnern ausgezeichnet bekömmlich ist, doch noch welche erkranken können, andererseits, dafs eine Kost, der der gröfste Teil der Versuchstiere erlag, von anderen gut vertragen wird.

Ja man ahnt sogar die Richtung, nach welcher man die Deutung der Ergebnisse der Eykmanschen Versuche mit Kartoffel-

stärke und Zucker zu suchen haben werde. Nach Voit[1]) setzen die Kohlehydrate den Eiweifsverlust (im Hungerversuch) um 9 bis 15 % herab. Nach Rubner kann man durch leichtverdauliche Kohlehydrate die Eiweifszersetzung sogar auf ein Drittel verringern. Auch aus den Tabellen in Rubners Bearbeitung des physiologischen Teiles in von Leydens Handbuch der Ernährungstherapie geht hervor, dafs der minimale Eiweifsbedarf nicht nur von der Menge, sondern von der Art der Kohlehydrate abhängig ist. Man darf also annehmen, dafs, wenn man Tiere mit einem bestimmten Kohlehydrat unter Zusatz einer minimalen Menge Fleisches ernähren will, man das Fleischquantum den verschiedenen Arten der Kohlehydrate entsprechend verschieden wählen mufs, um genau dem Eiweifsbedarf zu genügen. Gibt man zu wenig Fleisch, dann mufs das Tier, weil sein Eiweifsumsatz nicht unter ein bestimmtes Mafs sinken kann, aus seinem eigenen Organeiweifs nachhelfen, um das Defizit auszugleichen. In dem Falle zehrt das Tier hauptsächlich aus seinen eigenen Muskeln, und es ist wohl selbstverständlich, dafs es unter diesen Bedingungen nicht mehr als das Allernotwendigste seinem Körperbestand entnimmt.

Hieraus ergibt sich gleich, warum ein Huhn, das hungert, keine Nervenentartung bekommt. Es lebt (wie ich schon damals betonte) von seinen eigenen Muskeln, hat also fast ausschliefslich Fleischnährung, wobei, wie wir sahen, keine Entartung der Nerven aufzutreten pflegt. Genasen doch in vielen Versuchen von Eykman kranke Hühner bei ausschliefslicher Fleischkost auffallend schnell, wodurch wir gezwungen wurden, in dem Fleische ein oder mehrere Substanzen anzunehmen, die den Ausbruch der Polyneuritis verhindern, event. die Lähmung rückgängig machen können.

Verfüttern wir aber Stärke mit zu wenig Fleisch, um dem Eiweifsbedarf zu genügen, und mufs das Huhn aus dem eigenen Körper zehren, dann wird jedesmal von den Versuchsbedingungen bestimmt werden, wie grofs der minimale

1) E. Voit, Zeitschr. f. Biologie, XXXII, S. 117 (zitiert n. Referat).

Eiweifsbedarf, und deshalb auch wie grofs die Summe der protektiven Substanzen sein wird, die bei der Verdauung des Fleisches im Darmkanal und dem Zerfall Eiweifs liefernder Organbestandteile in den Kreislauf gelangen und also dem Nervensystem zur Verfügung kommen.

Nun wird Kartoffelstärke von Enzymen weniger leicht angegriffen, als andere Stärkesorten, und man kann es also nicht zu den leicht resorbierbaren rechnen. Es wird deshalb bei Kartoffelstärke als Hauptnahrung mehr Muskelfleisch aufgezehrt werden und es werden deswegen bei Kartoffelstärkenahrung in den Kreislauf mehr Schutzstoffe gelangen als bei Verfütterung anderer Stärkearten. Und es ist möglich, dafs dieses Plus gerade reicht um die Krankheit fern zu halten.

Wird nun aber die Kartoffelstärke in Dampf sterilisiert, wobei sie mehr oder weniger in Kleister umgewandelt werden mufs, und also leichter für Enzymen angreifbar, so wird sie wahrscheinlich auch leichter verdaulich werden, deshalb weniger Eiweis als Minimumbedarf fordern, wodurch weniger Organeiweis aus dem eigenen Körper entzogen wird. Es werden dann aber auch weniger Schutzstoffe in den Kreislauf gelangen und die Bedingungen für das Entstehen der Polyneuritis sind gegeben.

So wäre eine Vorstellung über das verschiedene Verhalten der frischen und der gedämpften Kartoffelstärke in den Eykmanschen Versuchen möglich.

Man könnte hiergegen einwenden, dafs dann bei Fütterung von Zuckerarten und wenig Fleisch das Auftreten der Krankheit erst recht zu erwarten wäre, dem doch durch den Versuch widersprochen wird. Es ist aber eine Eigentümlichkeit des Lebens, dafs fast alle bei demselben gefundenen Funktionen durch Kurven mit einem Maximum dargestellt werden müssen; und es gibt Gründe, zu vermuten, dafs solches auch hier der Fall sein werde. Der Zucker wird ja aufserordentlich schnell resorbiert, so lange keine Verdauungsstörungen vorliegen, wie das aus den Untersuchungen über die Wirkung des Zuckers bei Ermüdung hervorgeht.

Wenn nun, wie gewöhnlich bei dergleichen Versuchen, der Zucker in ein oder zwei Gaben täglich gegeben wird, so wird der Kreislauf ein oder zweimal am Tage förmlich mit Zucker überschwemmt, wodurch ein Teil dieses Zuckers bald oxydiert wird, denn der Stoffwechsel steigt wenn vielleicht verbrennbares Material in der Zirkulation vorhanden ist. Demzufolge wird für die übrigen Tageszeiten zu wenig Zucker übrigbleiben und das Tier wird mehr Eiweifs verbrauchen als sich nach dem Verbrennungswerte des dargereichten Zuckers erwarten liefs.

Man wird mir vorwerfen, dafs ich ins Blaue hinein spekuliere und schon längst das Gebiet wo die Theorien durch Beobachtungen kontrolliert werden können, verlassen habe. Ich habe aber schon im voraus gesagt, dafs ich nicht beanspruche eine Theorie zu geben, sondern dafs ich nur beabsichtige zu zeigen, dafs die Versuche Eykmanns mit Kartoffelstärke und Milchzucker, an deren Richtigkeit ich niemals gezweifelt habe, uns noch nicht zu dem Schlusse zwingen, dafs die Entstehung der Hühnerpolyneuritis an bestimmten Sorten von Stärke in der Nahrung gebunden (das heifst also: ohne Gegenwart dieser unmöglich) ist. Meine Versuche aber, besonders die mit Fleisch, sprechen gegen solche Auffassung[1]).

Gerade durch die Befunde Eykmans, dafs die von mir entdeckte Eigenschaft des ungeschälten Reises, durch Erhitzen in Dampf von 120° von einem geeigneten Hühnernährmittel in ein ungeeignetes verwandelt zu werden, allen Gramineen anzuhaften scheint, da ich dieselbe schon bei Phaseolus radiatus und bei Fleisch gefunden hatte, bekommen diese Tatsachen eine viel allgemeinere Bedeutung. Denn nicht nur für die Pathologie der Hühner, sondern für die allgemeine Physiologie der Nahrungs-

1) Wenn unter tausend mit stärkefreier Nahrung gefütterten Hühnern auch nur ein einziges an der Polyneuritis erkrankte, so wäre doch der Nachweis geführt, dafs die Krankheit unabhängig von Stärkegegenwart auftreten kann, also nicht an die Anwesenheit bestimmter Stärkearten gebunden ist. Und man müfste schon dann, wofern man die Hühnerpolyneuritis als einheitlichen Krankheitsbegriff wahren wollte, ihre Abhängigkeit von Stärke verneinen.

mittel und für die Ätiologie der Krankheiten, die mit der Ernährung im Zusammenhange stehen, wie Scorbut, Pellagra, Beriberi, wird das weitere Studium wichtige Anhaltspunkte geben. Dabei ist es aber nicht gleichgültig, ob die schädigende Wirkung einer bestimmten Nahrung gewissen darin befindlichen Substanzen (bzw. im Darmkanal daraus entstehenden Giften) zuzuschreiben oder aber ob sie auf das Fehlen von für das Leben oder die Gesundheit unentbehrliche Stoffe zurückzuführen sei. Denn im ersteren Falle wäre es rationell, das betreffende Mittel aus der Diät zu streichen, im letzteren ist man gewifs, durch geeigneten Zusatz den Mangel heben zu können.

Die Milchleukozytenprobe nach Trommsdorff.

Von

R. Schuppius,

cand. med. der Kaiser-Wilhelms-Akademie.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Im 12. Heft des Jahrgangs 1906 der Münchener Medizinischen Wochenschrift veröffentlichte Dr. Trommsdorff in München unter dem Titel »Die Milchleukozytenprobe« eine Arbeit, in der er angab, ein Verfahren gefunden zu haben, nach dem es möglich sein sollte, »den Leukozytengehalt der Milch ganz exakt festzustellen«.

Das Verfahren ging zurück auf eine Arbeit von Bergey in Philadelphia, die 1904 unter dem Titel »Source and nature of bacteria in milk« erschienen war. Danach hatte Bergey je 10 ccm der zu untersuchenden Milch zentrifugiert, den Bodensatz mit Chloroform entfettet und dann im Deckglasausstrichpräparat gefärbt betrachtet. Fand er in einem Gesichtsfeld mehr als 10 Leukozyten, so nahm er eine pathologische Eiterbeimengung in der Milch an.

Das grundlegende Prinzip bei der Methode Trommsdorffs bestand darin, dafs er »eine genau gemessene, relativ kleine Menge Milch mit einer guten Zentrifuge in einem Gläschen ausschleuderte, das unten in eine geeichte Kapillare ausläuft. Die Kapillareichung gestattet genau Mengen von 0,001 bis 0,02 ccm in Abständen von je 0,001 bequem abzulesen. Für die grofse

Praxis konstruierte er Röhrchen, die »einfach an dem etwas ausgezogenen Ende des Zentrifugengläschens zwei Marken (1 und 2 entsprechend einem Leukozytengehalt von 1 bzw. 2 ‰) tragen«.

Wurde die Milch in diesen Röhrchen auf einer gut laufenden Zentrifuge mit einer Umdrehungszahl von etwa 1200 in der Minute durch mehrere Minuten zentrifugiert, so sah man »in dem Bodenteil der Röhrchen einen gelblichen Bodensatz (Leukozyten) und konnte den Volumengehalt an Leukozyten direkt ablesen«.

Die Ergebnisse waren, wie Trommsdorff zusammen mit Dr. Rullmann im Oktoberheft 1906 des »Archiv für Hygiene« näher ausführt, folgende:

Die Milch wurde unter Wahrung peinlicher Sauberkeit im Stall von jeder Kuh einzeln entnommen und möglichst bald im Laboratorium untersucht. Es betrug dann der Leukozytengehalt im Mittel 0,2 bis 0,4 ‰. In den Fällen, in denen er 1 ‰ erreichte oder gar überstieg, was von 333 insgesamt untersuchten Kühen bei 57, also bei 17 % der Fall war, ergab die bakteriologische Untersuchung der Milch einen grofsen Reichtum an Streptokokken. Daraus folgerte Trommsdorff das Bestehen einer chronischen Streptokokkenmastitis bei der die Milch liefernden Kuh und eine durch diese Erkrankung verursachte pathologische Eiterbeimengung in der Milch. Er glaubte also annehmen zu dürfen, dafs seine »Milcheiterprobe« einen untrüglichen Schlufs auf die Menge der in der Milch vorhandenen Leukozyten, nach seiner Auffassung also auch gleichzeitig des Eiters, und das Bestehen der chronischen Streptokokkenmastitis zuliefs.

Bei diesen Angaben war mir zunächst auffallend erschienen, dafs nach Trommsdorff der ganze Bodensatz aus Leukozyten bestehen sollte, während Bergey, dessen Verfahren gegenüber dem Trommsdorffs doch keine prinzipiellen Unterschiede aufwies, sein Zentrifugat vor der mikroskopischen Betrachtung erst mit Chloroform entfetten mufste. In dieser Richtung glaubte ich zuerst noch aufklärende Versuche anstellen zu müssen.

Zur allgemeinen Orientierung über die Verhältnisse des Milchbodensatzes erschien es mir vorerst genügend, die Gesamt-

mischmilch eines Stalles zu untersuchen, da das Verfahren bei Anwendung der grob graduierten Röhrchen ja auch für die grofse Praxis von Nutzen sein sollte.

Da nach den Ermittelungen Trommsdorffs in München 17% aller untersuchten Kühe einen Leukozytengehalt von 1 ‰ und mehr in der Milch zeigten, konnte für Berlin angenommen werden, dafs, bei einer verhältnismäfsig gleichen Anzahl mastitiskranker Kühe, die Mischmilch eines Stalles einen Leukozytengehalt von wenigstens 0,2 bis 0,3 ‰ aufweisen müfste.

Von der zu untersuchenden Milch wurden genau nach den Angaben Trommsdorffs je 10 ccm in die Röhrchen gefüllt und auf einer Handzentrifuge, deren Umdrehungszahl vorher festgestellt war, mit 1200 bis 1300 Umdrehungen in der Minute 2 Minuten lang zentrifugiert. Dann zeigte sich in dem Kapillarteil der Röhrchen tatsächlich ein Bodensatz bis zur Höhe des Teilstriches für 0,3 bis 0,4 ‰, der aber im Gegensatz zu den Resultaten Trommsdorffs, statt gelblich, mehr graugrün gefärbt war.

Von diesem Bodensatz wurde nach vorsichtiger Entfernung der Milch eine Probe mittelst einer ausgeglühten Platinnadel auf ein Deckglas gebracht, mit Methylenblau gefärbt und unter dem Mikroskop betrachtet. Dann fiel sofort ein grofser Reichtum des Bodensatzes an Fett auf, ein Befund, der bei allen Präparaten mit absoluter Regelmäfsigkeit wiederkehrte. Dagegen waren Leucozyten nur in verhältnismäfsig sehr geringer Anzahl zu entdecken.

Es wurde nun versucht, den ungefähren Fettgehalt des Bodensatzes zu ermitteln. Der zu dem Zweck anfänglich unternommene Versuch, durch Ausschütteln der Milch mit Chloroform und nachfolgendes Zentrifugieren zum Ziel zu kommen, führte zu keinem Resultat, da die Kapillaren von Chloroformtröpfchen verstopft wurden.

Es wurde darum folgender Weg eingeschlagen: Zwei Röhrchen mit je 10 ccm Milch wurden unter den obengenannten Bedingungen zentrifugiert, dann aus dem einen die Milch vorsichtig abgegossen, das Röhrchen wieder mit Äther gefüllt, der Boden-

satz mit der Platinnadel kräftig aufgerührt und abermals zentrifugiert. Der neu gewonnene Bodensatz stand dann in der Kapillare annähernd halb so hoch wie in dem Kontrollröhrchen. Es mufste also der Bodensatz erhebliche Mengen von Fett enthalten.

Um sicher zu gehen, wurde der Versuch noch in folgender Weise variiert:

Eine gröfsere Menge Milch wurde mit Äther kräftig durchgeschüttelt und stehen gelassen. Nach einigen Stunden, als sich der Äther genügend von der Milch gesondert hatte, wurde die obere Schicht vorsichtig abgesogen, von der entfetteten Milch 10 ccm in ein Zentrifugenröhrchen abgegossen und dieses zugleich mit einem Kontrollröhrchen mit gewöhnlicher Milch in der üblichen Weise zentrifugiert. Auch hier ergab sich, dafs die Bodensätze von entfetteter und gewöhnlicher Milch sich dem Volumen nach annähernd wie 1 : 2 verhielten.

Um weiterhin festzustellen, ob etwa noch andere, fremdartige Bestandteile in dem Bodensatz sich fänden, wurde dieser zunächst einer genaueren makroskopischen Betrachtung unterzogen, und es zeigte sich, dafs er aus zwei, wenn auch nicht deutlich getrennten Teilen bestand, einem oberen, ziemlich lockeren und einem unteren, dichteren, anscheinend fest zusammengeballten.

Von der oberen Schicht wurden bei normalem wie bei entfettetem Bodensatz Deckglasausstrichpräparate angefertigt und ungefärbt betrachtet. Es fanden sich darin aufser den gewöhnlichen Fetttröpfchen sehr vereinzelte Leukozyten, daneben aber grünlichgelb gefärbte Bröckchen von Kuhkot, Haare bis zur Länge von ca. 2 mm und eine grofse Anzahl Bakterien der verschiedensten Arten.

Den unteren Teil des Bodensatzes gelang es in einigen Fällen mittels der Platinnadel in toto heraus- und auf den Objektträger zu bringen. Die mikroskopische Betrachtung zeigte dann sofort, dafs der ganze Klumpen aus breiten, platten, vielfach um ihre Längsachse gedrehten, vegetabilischen Fasern, offenbar also aus Baumwolle bestand, die wohl infolge des Durchseihens durch

baumwollene Tücher in die Milch gelangt war. Leukozyten waren zwischen den Fasern nicht zu finden.

Es war also der Nachweis geliefert, dafs der Bodensatz der untersuchten Mischmilch trotz seines verhältnismäfsig grofsen Volumens nur wenig Leukozyten, dagegen sehr viel fremdartige Bestandteile enthielt.

Dieselben Versuche wurden nun mit einer Milch angestellt, die direkt von der Kuh entnommen war. Zu dem Zweck wurden in einem, unter kreistierärztlicher Kontrolle stehenden Stall, unter Beachtung der vom hiesigen Polizeipräsidium erlassenen Vorschriften — sorgfältige Reinigung der Hände des Melkers und Abspritzen der ersten Milch jedes Striches — von neun Kühen Milchproben direkt in vorher sterilisierte Glaskölbchen abgemolken und möglichst bald im Laboratorium untersucht bzw. auf Eis gelegt.

Beim Zentrifugieren unter den obengenannten Bedingungen ergab sich dann ein Bodensatz, dessen Höhe nach Mafsgabe der Kapillareichung zwischen 0,1 und 0,3 ‰ schwankte.

Eine Behandlung dieses Bodensatzes in der oben angegebenen Weise — übergiefsen mit Äther, umrühren und zentrifugieren — ergab einen sehr hohen Gehalt an Fett, wie aus folgender Tabelle ersichtlich wird:

Bodensatz in ‰.

Nr.	normal	entfettet	Bemerkungen
I	0,1	Spur	
II	0,3	0,05	
III	0,2	0,1	
IV	0,1	Spur	
V	0,1	—	blutig gefärbt
VI	0,2	0,1	
VII	0,1	Spur	
VIII	0,1	Spur	
IX	0,3	—	etwas gelblich

Im allgemeinen erschien bei diesen Proben der Fettgehalt des Bodensatzes etwas höher als bei der vorher untersuchten Mischmilch des ganzen Stalles; dafür traten, wie es bei der vor-

sichtigen Entnahme der Milch ja auch nicht anders zu erwarten war, die sonstigen fremden Beimischungen etwas in den Hintergrund. Zwar fanden sich Haare bis zur Länge von 2 mm auch hier fast in jedem Zentrifugat, aber Kuhkot war nur in relativ sehr geringen Mengen vorhanden, und die in der Gesamtmischmilch gefundenen Baumwollfasern fielen natürlich ganz weg.

In der Probe 5, deren Bodensatz von vornherein durch seine blutig rote Farbe aufgefallen war, fanden sich ziemlich reichlich rote Blutkörperchen — bis zu 10 im Gesichtsfeld bei Betrachtung mit $^1/_{12}$ Ölimmersion —, so dafs es scheint, dafs auch diese bei der Bildung des Bodensatzes eine gewisse Rolle zu spielen geeignet sind.

Die Untersuchung von mit Methylenblau gefärbten Ausstrichpräparaten der Bodensätze ergab in allen Fällen einen im Verhältnis zu der Stallmischmilch überraschend hohen Gehalt an Leukozyten. Wenngleich nun deren Menge nach Trommsdorff durchaus noch nicht pathologisch war, so erschien es doch angebracht, die Leukozyten genauer zu untersuchen, da immerhin die Möglichkeit vorlag, dafs eine Eiterung zu ihrem zahlreichen Auftreten in der Milch den Anlafs gegeben haben könnte.

Diese Untersuchung geschah durch Färbung von Deckglasausstrichpräparaten der Bodensätze nach dem Verfahren von May-Grünwald. Dann stellte sich heraus, dafs die Leukozyten zum gröfsten Teil solche mit eosinophilen Granulationen waren. Die wenigen anders gearteten, meist Lymphozyten, selten auch Myelozyten, spielten im Vergleich zu ihnen keine Rolle. Da nun nach Klemperer[1]) die Eiterkörperchen zum überwiegend gröfsten Teil Leukozyten von basophilem multinukleärem Typus sind, konnte angenommen werden, dafs die in der Milch gefundenen eosinophilen Zellen nicht auf eine Eiterung hindeuten. Dagegen ist es wohl möglich, dafs das Auftreten eosinophiler Zellen in der Milch in einem gewissen Zusammenhang mit dem Stadium der Laktation steht. Wenigstens sagt Stöhr[2]) bezüglich der

1) v. Mehring, Lehrbuch der inneren Medizin, 3. Aufl., S. 1003.
2) Stöhr, Histologie, 2. Aufl., S. 346.

Verhältnisse beim Menschen, dafs vor Beginn der Laktation das interstitielle Bindegewebe der Milchdrüse mit reichlichen eosinophilen Zellen infiltriert ist, die während der Laktation allmählich daraus verschwinden, also höchst wahrscheinlich doch in die Milch übergehen. Tatsächlich waren auch im vorliegenden Falle, nach Aussage des Besitzers, mehrere von den untersuchten Kühen erst ganz vor kurzem in eine neue Laktationsperiode eingetreten.

Es war nun nach allen diesen Ergebnissen als erwiesen anzusehen, dafs ein durch Zentrifugieren der Milch erhaltener Bodensatz nicht notwendig aus reinen Leukozyten bestehen müsse.

In zweiter Linie mufste sich nun die Untersuchung darauf richten, ob ein wirklich erzielter, aus Leukozyten bestehender Bodensatz einen sicheren Schlufs auf die Menge des der Milch beigemengten Eiters zuläfst, da doch eine einfache Überlegung ergibt, dafs Eiter je nach den Umständen bald mehr, bald weniger Leukozyten enthält.

Da zu den dazu nötigen Versuchen Eiter von mastitiskranken Kühen leider nicht zur Verfügung stand, mufste menschlicher Eiter benutzt werden, dessen Entnahme aus der Chirurgischen Poliklinik der Charité Herr Prof. Dr. Pels-Leusden in liebenswürdiger Weise gestattete.

Es wurden znnächst 500 ccm Milch mit je 1 ccm Eiter von einem phlegmonösen Panaritium versetzt, so dafs die Milch einen Eitergehalt von 2‰ besafs, der Kolben mit der Milch 5 Minuten tüchtig geschüttelt, bis sich der Eiter gleichmäfsig fein verteilt hatte, 10 ccm von der Mischung in ein Zentrifugierungsröhrchen abgegossen und dieses zusammen mit einem Kontrollröhrchen mit normaler Milch unter den gewohnten Bedingungen zentrifugiert.

Dann zeigte sich in dem Röhrchen mit der Eitermilch ein Bodensatz von 0,9 ‰, in dem Kontrollröhrchen ein solcher von 0,3 ‰. Da nach den oben angegebenen Untersuchungen der Bodensatz der Mischmilch fast gar keine Leukozyten enthält, mufste man von 0,9 ‰ noch 0,3 abziehen, um die wirkliche Leukozytenmenge = 0,6 ‰ zu erhalten. Um dem Einwurf zu begegnen, dafs die Zentrifugierung nicht lange genug fortgesetzt

worden sei, wurden versuchsweise zwei Röhrchen mit derselben Mischung die doppelte Zeit zentrifugiert, ohne dafs das Resultat sich von dem vorigen in erheblicher Weise unterschieden hätte. Es ergab sich also endgültig bei einer Milch, die 2 ‰ Eiter enthielt, ein Bodensatz von weniger als 1 ‰ Leukozyten.

Um aber zu wirklich einwandfreien Resultaten bezüglich des Leukozytengehalts des Eiters zu kommen, mufste die Fehlerquelle ausgeschaltet werden, die vielleicht in der künstlichen Mischung der Milch mit Eiter liegen könnte, und dazu wurde eine Untersuchung eines Gemenges von Eiter und physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen, um einen Bodensatz zu erhalten, der aus nichts anderem als Leukozyten bestehen konnte.

Es wurden im selben Verhältnis von 2 ‰ Gemenge einer frisch bereiteten und filtrierten physiologischen Kochsalzlösung mit Eiter von demselben Panaritium wie oben, dann von einem Drüsenabszefs und einer Mastitis hergestellt und in den Kapillarröhrchen zentrifugiert. Dann ergab sich bei dem Panaritiumeiter nach 2 Minuten ein Bodensatz von 1 ‰. Bei den anderen Eiterarten, die beide sehr dickflüssig waren, mufste die Zentrifugierung etwas länger fortgesetzt werden, und es zeigte sich bei dem Drüseneiter ein Bodensatz von 1,7 ‰, während bei dem Mastitiseiter der Bodensatz merkwürdigerweise weit über den obersten Teilstrich der Kapillare hinausging. Da aber bei der Herstellung des Gemenges mit grofser Sorgfalt verfahren war, mufste hieraus gefolgert werden, dafs der Inhalt der Kapillare kleiner war als 0,02 ccm, dafs also die Graduierung nicht richtig sein konnte. Aufserdem resultierte aber aus diesen Ergebnissen, dafs verschiedene Eiterarten auch verschiedenen Leukozytengehalt besitzen, dafs es also nicht angängig ist, mit Trommsdorff Leukozyten gleich Eiter zu setzen und einfach aus der Menge der Leukozyten auf die Menge des Eiters zu schliefsen.

Um schliefslich noch den Inhalt der Kapillaren genauer zu ermitteln, wurde auch auf folgende Weise verfahren:

Die Röhrchen wurden im Trockenschrank längere Zeit erhitzt, um jede Feuchtigkeit zu beseitigen, und dann genau gewogen. Hierauf wurden die Kapillaren bis zum Teilstrich 2

mit gereinigtem Quecksilber gefüllt und die Röhrchen abermals gewogen. Die Differenz der beiden Gewichte ergab das Gewicht der in der Kapillare enthaltenen Quecksilbersäule. Bei Division dieser Zahl durch das spezifische Gewicht des Quecksilbers unter Berücksichtigung der Temperatur ergab sich das Gewicht der gleichen Wassermenge und damit der Inhalt der Kapillaren. Die Resultate waren folgende:

Bei den fein graduierten Röhrchen, bei einer Temperatur von 22° C und einem spezifischen Gewicht des Quecksilbers = 13,54:

Nr.	Gewicht des Röhrchens allein g	Gewicht des Röhrchens mit Hg g	Gewicht d. Hg. g	Vol. i. ccm
I	9,86	10,03	0,17	0,0125
II	9,53	9,71	0,18	0,0133
III	8,62	8,80	0,18	0,0133
IV	8,72	8,92	0,20	0,0148
V	10,00	10,16	0,16	0,0118
VI	9,39	9,57	0,18	0,0133
VII	9,81	9,98	0,17	0,0125

Für die grob graduierten Röhrchen ergab sich bei einer Temperatur von 19° C und dem spezifischen Gewicht des Quecksilbers = 13,549:

Nr.	Gewicht des Röhrchens allein g	Gewicht des Röhrchens mit Hg g	Gewicht d. Hg. g	Vol. i. ccm
I	8,38	8,58	0,20	0,0147
II	9,40	9,58	0,18	0,0132
III	8,09	8,27	0,18	0,0132
IV	8,02	8,21	0,19	0,0140
V	8,46	8,65	0,19	0,0140
VI	9,18	9,37	0,19	0,0140

Demnach war der Inhalt sämtlicher Kapillaren verschieden und blieb 0,005 bis 0,008 ccm hinter der angegebenen Zahl 0,02 zurück.

Es läfst sich also das Endresultat der vorliegenden Untersuchungen folgendermafsen formulieren:

I. Die Graduierung der von Trommsdorff angegebenen, im Handel erhältlichen Zentrifugierungsröhrchen ist nicht genau; der Inhalt ihres Kapillarteils erreicht statt 0,02 im besten Falle 0,0148 ccm.

II. Ein durch Zentrifugieren von Milch in Trommsdorffs Kapillaren erhaltener Bodensatz besteht zum grofsen Teile — manchmal bis zu 50 Vol. Proz. und darüber — aus Fett. Aufserdem finden sich darin Kuhkot, Haare, rote Blutkörperchen u. a. m., dagegen relativ wenig Leukozyten, die aber nicht von einer Eiterung herrühren, da sie zum gröfsten Teil solche mit eosinophilen Granulationen sind.

III. Aus der Menge der Leukozyten im Bodensatz läfst sich nicht auf die Menge des der Milch beigemengten Eiters schliefsen, da der Leukozytengehalt verschiedener Eiterarten verschieden ist.

Zum Schlufs sei es mir gestattet, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Rubner für seine liebenswürdige Unterstützung und Förderung bei meinen Untersuchungen meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Das spez. Gewicht gekochter und roher Fleischsorten.

Von

Dr. **Nawiasky**,
Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.
Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Bei den Untersuchungen über das Eindringen der Wärme in feste Objekte und Organteile hat Prof. Rubner darauf hingewiesen, dafs nur wenige Versuche vorliegen, aus denen man Angaben über das spezifische Gewicht des Fleisches zu entnehmen in der Lage sei.[1]) Derartige Feststellungen haben namentlich hinsichtlich der Bestimmung der spezifischen Wärme des Fleisches Bedeutung und können auch für einige physiologische Überlegungen Interesse beanspruchen.

Ich habe daher auf Anregung von Prof. Rubner eine Reihe von Messungen ausgeführt. Das zu prüfende Material — Rindfleisch, Kalbfleisch, roher Schinken, gekochter Schinken — wurde sorgfältig von anhaftendem Fett befreit, dann zu Trocken- und Fettbestimmung von der Substanz weggenommen.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichts wurde mit der Westphalschen Wage ausgeführt, deren einer Wagebalken für diese Zwecke bekanntlich ein kleines Glaskörbchen, in welches die Substanzen eingelegt werden, trägt. Man mufs möglichst

1) Arch. f. Hyg., Bd. LV, S. 239.

rasch arbeiten, damit ein Ablösen von Substanz durch das Wasser vermieden wird. Dies läfst sich auch erreichen.

Die Fleischstücke wurden dann an einem Draht in einem Glaskolben mit Verschlufs aufgehängt und bei 100° im Dampfkochtopf (1 Stunde) erwärmt, die Stücke mit Fliefspapier abgetrocknet und wieder zur Bestimmung des spezifischen Gewichts verwendet. Kleinere Stücke als 100 g wiegende wurden nicht verwandt.

Die Rindfleisch-Kalbfleischproben waren sehr mageres Fleisch, beim Schinken konnten nicht gleich fettarme Proben erhalten werden. Immerhin gehören die ausgewählten Proben nicht zu solchen mit hohem Fettgehalt.

In nachstehender Tabelle habe ich die erhaltenen Werte zusammengestellt.

Übersicht über die Versuche.

Nr.	Abnahme %	Spez. Gewicht I	Spez. Gewicht II	Fettgehalt %	Trockensubstanz %	
1.	47,547	1,0648	1,1049	1,816	26,298	Rindfleisch
2.	45,009	1,0676	1,1034	0,964	25,63	
3.	48,661	1,0670	1,0999	0,8275	23,677	
4.	52,321	1,0547	1,0883	2,1102	22,640	
5.	48,360	1,0550	1,1060	1,1969	23,264	Kalbfleisch
6.	49,073	1,0640	1,1072	0,8890	22,438	
7.	45,920	1,0683	1,1002	1,3230	22,530	
8.	45,877	1,0704	1,1056	0,9874	22,791	
9.	43,626	1,1192	1,1246	4,8469	38,806	Roher Schinken
10.	43,471	1,1003	1,1691	8,2234	37,246	
11.	44,035	1,1170	1,1452	10,772	43,304	
12.	45,094	1,1704	1,1631	3,5555	37,753	
13.	14,606	1,1157	1,1157	5,0959	39,876	Gekocht. Schinken
14.	31,068	1,0877	1,1150	6,0612	33,928	
15.	31,314	1,1264	1,1105	5,7938	40,034	
16.	18,095	1,0842	1,0758	10,554	41,930	

Man sieht, die Ergebnisse sind sehr gleichartig. Ich bilde daher die Mittelzahlen.

Spez. Gewicht.

	Frisch	nach Erhitzen auf 100°	Gewichts-abnahme
Rindfleisch	1,0635	1,0991	48,38
Kalbfleisch	1,0644	1,1047	47,30
Roher Schinken . . .	1,1267	1,1455	44,05
Gekochter Schinken. .	1,1035	1,1042	23,77

Daraus folgt: Mageres Rindfleisch gibt im Mittel 1,0635 spezifisches Gewicht, der Wert ist etwas höher als der von Rubner gefundene mit 1054, aber kleiner als jener von Glan = 1,070. — Es hängt dies natürlich mit Verschiedenheiten des Fettgehaltes zusammen. Zwischen Rind- und Kalbfleisch ist kein Unterschied zu finden. Dagegen zeigt sich beim rohen wie gekochten Schinken ein weit gröfseres spezifisches Gewicht. Bei rohem Schinken hängt das mit dem Verlust von Wasser beim Einsalzen und dem Übertritt von Kochsalz zusammen.

Die Erhitzung auf 100° bringt folgende Unterschiede: bei Rindfleisch nimmt das spezifische Gewicht zu, wie dies auch Rubner angegeben hat. Ähnlich bei Kalbfleisch. Die Differenzen sind:

	Rindfleisch	Kalbfleisch
	1,0991	1,1047
	1,0635	1,0644
Differenz:	0,0356	0,0403

Immerhin ist bemerkenswert, dafs sich das spezifische Gewicht bei Kalbfleisch etwas mehr ändert, zumal gerade Kalbfleisch etwas weniger an Gewicht bei Erhitzen einbüfst. Demnach müssen kleine Unterschiede bei beiden mit Rücksicht auf die Art der beim Kochakt austretenden Stoffe vorhanden sein.

Roher Schinken ändert sich beim Erhitzen nur um wenig im spezifischen Gewicht, wie es auch sich weniger am Gewichtsverlust erkennen läfst. Dies steht im Einklang mit Experimenten,

welche Nothwang im hiesigen Laboratorium ausgeführt hat. (Archiv f. Hyg. Bd. XVIII, S. 80.) Beim Salzen wird bereits Wasser abgegeben, bei der durch Schrumpfen eintretenden Volumveränderung macht sich dieser frühere Wasserverlust geltend. Die nachfolgende Kochung presst weniger Bestandteile aus bzw. verdrängt einen Teil des früher aufgenommenen Kochsalzes. Interessant ist in dieser Hinsicht der gekochte Schinken; er sollte gar keine Änderung seiner Verhältnisse zeigen. Tatsächlich nimmt er an Volum und Gewicht ab. Damit ist bewiesen, dafs der Schinken vorher nicht auf 100° erhitzt worden sein kann. Man kann also diese Methodik benützen, um nachträglich festzustellen, welche Temperaturen der Schinken früher bei der Erwärmung erreicht hatte. Trotz der Volumverminderung zeigt sich bei dem gekochten Schinken keine Änderung des spezifischen Gewichts.

Man sieht beim Vergleich der nach der Erhitzung auf 100° erhaltenen Zahlen, dafs im gekochten Zustande der Fleischsorten die Differenzen im spezifischen Gewicht sehr kleine sind.

Nach mancher Richtung könnte es wünschenswert sein, den Einflufs des Fettes, der ja natürlich für das mittlere spezifische Gewicht Bedeutung haben mufs, durch Rechnung zu eliminieren.

Für das frische Fleisch gebe ich nachstehend eine Zusammenstellung.

Umrechnung auf fettfreies Fleisch.

Nr.	Spez. Gewicht I	Mittel	Nr.	Spez. Gewicht I	Mittel
1.	1,0695	1,0671	9.	1,1367	1,1526
2.	1,0701		10.	1,1286	
3.	1,0691		11.	1,1588	
4.	1.0599		12.	1,1862	
5.	1,0579	1,0672	13.	1,1338	1,1263
6.	1,0663		14.	1,1066	
7.	1,0716		15.	1,1484	
8.	1,0730		16.	1,1186	

Sie zeigt bei Rindfleisch und Kalbfleisch erst Unterschiede in der dritten Dezimale:

1.0671	1,0672
1,0635	1,0644
0,0036	0,0028

Gröfser ist der Unterschied bei dem Schweinefleisch, das einen höheren Fettgehalt hatte.

1,1526	1,1263
1,1267	1,1035
0,0259	0,0228

Für Betrachtungen über die Wärmeleitung sind aber auch diese Unterschiede belanglos.

Beitrag zur Biologie des Bacillus faecalis alcaligenes.

Von

Dr. Walter Gaehtgens.

(Aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut zu Strafsburg i/Els.
Direktor: Prof. Dr. Forster.)

Die im Jahre 1904 von Altschüler[1]) veröffentlichte und in der Folge von Doebert[2]) bestätigte Mitteilung, dafs es ihm gelungen sei, einen Typhusbazillus in einen faecalis alcaligenes und umgekehrt einen Alkaligenes in ein die biologischen Eigenschaften des Eberthschen Stäbchens aufweisendes Bakterium umzuzüchten, war geeignet, das allgemeine Interesse in Anspruch zu nehmen. Wäre doch durch diese Feststellung nicht allein die Möglichkeit eröffnet, die Entstehungsursache des Typhus abdominalis in einer Reihe ätiologisch unklarer Fälle zu erklären, sondern auch die Lehre von der Spezifität der Bakterienarten stark in Mitleidenschaft gezogen worden. Es war daher nur natürlich, dafs von verschiedenen Seiten Nachprüfungen vorgenommen wurden, durch welche die obigen Ergebnisse indessen nicht bestätigt werden konnten. Diese Nachuntersuchungen ergaben einerseits, dafs die von Altschüler und Doebert benutzten Stämme nicht Reinkulturen gewesen waren, wodurch sich mit grofser Wahrscheinlichkeit ihre auffälligen Resultate erklären liefsen, anderseits, dafs eine Umwandlung der Typhus- und Alkaligenesbazillen im Sinne der beiden Autoren beim Arbeiten

mit einwandfreien Reinkulturen nicht erfolge. Aus der Altschülerschen in Typhus umgewandelten Alkaligeneskultur vermochte Conradi[3]) 3 verschiedene Stäbchenarten zu isolieren, die, nach seiner Angabe, mit den Wesenseigenschaften des Typhusbazillus nichts gemein hatten, Boit[4]) aber nur 2, einen typhusähnlichen Bazillus und den Alkaligenes. Dagegen vermochte Berghaus[5]) aus dem von Doebert benutzten Stamm nur Typhus- und Alkaligenesbazillen zu züchten. Er und, unabhängig von ihm, Trommsdorff[6]) nahmen auch eine Nachprüfung der Doebertschen Versuche vor, ohne indes seine Ergebnisse bestätigen zu können. Die weiteren eingehenden Untersuchungen von Berghaus[7]) brachten dann neue interessante Aufklärungen über die Lebenseigenschaften des Alkaligenes, welche für die Begutachtung von Fäkalisreinkulturen erhöhte Sicherheit bieten und zugleich die Spezifität des Petruschkyschen Bazillus aufser Frage stellen. Indessen blieb vorläufig die Frage ungelöst, ob in der Tat die Annahme, dafs Altschüler nicht von Reinkulturen ausgegangen wäre, genüge, um seine auffälligen Befunde zu erklären. Auf Anregung und unterstützt von Hrn. Prof. Forster habe ich die Altschülerschen Versuche in eingehender Weise nachgeprüft und insbesondere durch Beobachtung und gleichzeitige Züchtung von Typhus- und Alkaligenesbazillen in einem gemeinsamen Nährsubstrat Anhaltspunkte dafür zu finden gesucht, ob und unter welchen Bedingungen ein Überwuchern der einen oder der anderen Bakterienart stattfindet, wodurch sich der Irrtum Altschülers vielleicht erklären liefse. Zu diesem Zwecke nahm ich zunächst in der von Altschüler angegebenen Weise die Züchtung der Typhus- und Alkaligenesbazillen vor.

Altschüler brachte möglichst sterile Plazentastückchen von ungefähr 8 ccm Inhalt in sterilisierte Kölbchen, welche, um einem zu schnellen Eintrocknen vorzubeugen, etwas physiologische Kochsalzlösung enthielten. Auf die Plazentastücke wurden dann Koli-, Typhus- und Paratyphusbazillen (A und B) übergeimpft und sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 37° C fortgezüchtet. Alle 8 Tage wurden die genannten Bakterienarten durch Ausstrich auf v. Drigalski-Conradiplatten geprüft.

Während bei diesen über mehrere Wochen fortgeführten Untersuchungen sich die Koli- und Paratyphusbakterien dauernd unverändert zeigten, traten bei 2 der benutzten Typhusstämme auffällige biologische Veränderungen ein. Der eine verlor nach $4^1/_2$ Wochen die Agglutinationsfähigkeit, bläute nach 24 Stunden Lackmusmolke und bildete auf Kartoffel einen gelblichen Belag. Bei dem zweiten liefs sich die gleiche Erscheinung nach sechs Wochen beobachten. Die derart veränderten Bazillen schlugen nach 3 resp. $4^1/_2$ Wochen wieder um, indem sie Lackmusmolke 3 Tage lang säuerten und erst vom vierten Tage ab wieder Alkali bildeten. Nicht minder merkwürdig war das Verhalten einer Alkaligenesagarkultur, von welcher, ohne weiterzuimpfen, alle 8 Tage Proben in Lackmusmolke und auf Kartoffeln geprüft wurden. Nach 4 Wochen wurde dieser Stamm von einem hochwertigen Typhusimmunserum agglutiniert; nach 6 Wochen säuerte er Lackmusmolke schwach und liefs sie klar; nach 8 Wochen schliefslich zeigte er, gleich dem Typhusbazillus, auf Kartoffel unsichtbares Wachstum. Der Faecalis alcaligenes hätte sich also dermafsen verändert, dafs er mit den gewöhnlichen Methoden von einem echten Typhusbazillus nicht zu unterscheiden war. Altschüler nimmt an, dafs die bacilli faecales alcaligenes keine Einheit bilden, weil ihm diese Umwandlung nur einmal gelang, ein Schlufs, der an sich, wenn auch aus anderen Gründen, richtig ist.

Nach dem von Altschüler angegebenen Verfahren habe ich zunächst einen aus dem Blute eines Typhuspatienten gezüchteten Typhusstamm, sowie 3 Alkaligenesstämme eingehend geprüft. Von allen 4 bei Zimmertemperatur und 37° C sowohl auf sterilen Plazentastückchen, als auch auf Agar gezüchteten Stämmen wurden wöchentlich Proben in Lackmusmolke, Traubenzuckerbouillon und auf Kartoffel übergeimpft, sowie ihr Verhalten gegenüber einem hochwertigen Typhusimmunserum geprüft. Das Ergebnis dieser Untersuchungen nach 8 Wochen war, dafs eine Umwandlung der Bakterien im Sinne Altschülers nicht stattgefunden hatte. Ebensowenig konnte ich, wie schon an anderer Stelle[8]) mitgeteilt ist, an 50 Typhus-

stämmen, welche $1\frac{1}{2}$ bis 3 Jahre in zugeschmolzenen Röhrchen bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden waren, eine Veränderung feststellen.

Nachdem es Berghaus gelungen ist, die Resultate Doeberts durch die Züchtung von Typhus- und Alkaligenesstäbchen aus dem von diesem benutzten Fäkalisstamm zwanglos zu erklären, liegt die Annahme des gleichen Zusammentreffens auch für die Altschülerschen Untersuchungen am nächsten. Obwohl dieser Nachweis weder Conradi noch Boit gelungen ist, kann man diese Möglichkeit um so weniger von der Hand weisen, da sich beide Autoren zur Prüfung der Altschülerschen Kultur lediglich der Lackmus-Milchzuckerplatten bedienten, welche für diesen Zweck wohl kaum genügen dürften. Da mir der von Altschüler benutzte Stamm leider nicht mehr zur Verfügung stand, mufste ich mich darauf beschränken, das Verhalten der beiden Bakterienarten in einem gemeinsamen Nährsubstrat zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke mufste ich mich nach einem Kulturmedium umsehen, welches die Differenzierungen der beiden Bakterien in leichter, übersichtlicher Weise ermöglicht. Die gewöhnlichen, im Laboratorium täglich gebrauchten Nährböden schienen mir dafür wenig geeignet zu sein. Zwar lassen sich nach einigen Tagen auf dem Lackmus-Milchzuckeragar und noch mehr auf der Gelatine deutliche Unterschiede zwischen den Typhus- und Alkaligeneskolonien erkennen, welche zur Differenzierung vereinzelter isolierter Kolonien mit Erfolg herangezogen werden können. Für das Arbeiten mit grofsen Bakterienmengen sind aber derartige Verschiedenheiten zu wenig ins Auge fallend, da unmöglich jede Kolonie einer eingehenden Prüfung unterzogen werden kann. Indessen mufsten für die Herstellung eines diesen Anforderungen genügenden Nährsubstrates die biologischen Eigenschaften der Typhus- und Alkaligenesbazillen hinreichenden Anhalt bieten.

Petruschky[9], [10]), dem zuerst die Züchtung des Fäkalis aus einer Probe verdorbenen Bieres gelungen ist, gibt als ge-

meinsame Kennzeichen für den Typhusbazillus und den Alkalibildner an:

1. Lebhafte Beweglichkeit in geeignetem Nährboden;
2. vollständiger Kranz von Geifseln bei Färbung nach Loeffler;
3. Entfärbung nach der Gramschen Methode;
4. Aussehen der Kolonien auf der Gelatineplatte;
5. Wachstum in Milch, ohne dieselbe zur Gerinnung zu bringen;
6. Wachstum in zuckerhaltigen Nährböden ohne Gasbildung;
7. negative Indolreaktion.

Als sichere Unterscheidungsmittel sind zu gebrauchen:

1. Wachstum in Lackmusmolke, welche der Alkaligenes zunächst trübt und dann alkalisch macht, während der Typhusbazillus dieselbe fast vollkommen klar läfst und leicht säuert.
2. Die Immunitätsreaktion mit Typhusserum nach Pfeiffer, welche der Alkaligenes nicht gibt.
3. Das Wachstum auf Kartoffel, auf welcher sich der Alkaligenes als gelbbrauner Belag, der Typhusbazillus dagegen unsichtbar entwickelt.

Als 4. für die Begutachtung von Reinkulturen wichtiges Differenzierungsmerkmal stellte ferner Berghaus das absolute Sauerstoffbedürfnis des Alkaligenes fest.

Bei der Nachprüfung dieser Angaben, welche ich zum Zwecke der Identifizierung einiger von mir verhältnismäfsig oft aus Fäzes gezüchteten Alkaligenesstämme vornahm, gelang es mir, einen Unterschied zwischen beiden Bakterien auch in ihrem Verhalten in der Milch festzustellen. Während der Typhusbazillus die Milch dauernd unverändert läfst, beginnt der Fäkalis sie nach Verlauf einer Woche gelb zu färben und mehr oder weniger ausgesprochen aufzuhellen. Diese Erscheinung, welche bei der gewöhnlichen Brutschranktemperatur von 37°C nach 6—8 Tagen aufzutreten pflegte, liefs

sich bei 40° C schon nach 5 Tagen beobachten, während eine weitere Temperaturerhöhung ihren Eintritt sichtlich verzögerte. Besonders deutlich zeigte sich die Aufhellung bei einem mir von Herrn Professor Dr. Petruschky gütigst zur Verfügung gestellten Alkaligenesstamme, während bei den übrigen dieses Phänomen weniger ausgesprochen auftrat, dagegen die Gelbfärbung stets unverkennbar war und demnach als konstantes Charakteristikum angesehen werden mufs. Einige Bedeutung gewinnt dieses Unterscheidungsmerkmal dadurch, dafs der Farbenwechsel und die Aufhellung regelmäfsig auch in Typhus-Alkaligenesgemischen beobachtet und demgemäfs beim Arbeiten mit diesen Bakterienarten als Beweis für die Verunreinigung einer Typhuskultur betrachtet werden können.

So wertvoll diese Eigenschaften für die Identifizierung des Alkaligenes und insbesondere für die Begutachtung von Reinkulturen auch sind, meinem nächsten Ziele brachten sie mich doch nicht näher. Aussichtsvoller schien mir die Verwertung der Tatsache zu sein, dafs der Fäkalis Traubenzucker, den der Typhusbazillus bekanntlich unter Bildung saurer Produkte zersetzt, nicht anzugreifen vermag. Auch Berghaus hat sich diese Erfahrung zunutze gemacht und in der von Christian*) modifizierten Barsiekowschen Nährlösung[11]) deutliche Wachstumsunterschiede erzielt. Meinen Zwecken, welche in erster Linie die Herstellung eines festen Nährsubstrates erforderten, beschlofs ich das Prinzip der bei der Typhusdiagnose so überaus erfolgreich angewandten Endoschen[12]) Züchtungsmethode dienstbar zu machen.

Den Chemismus des Farbenumschlages des Milchzucker-Fuchsinagars beschreibt Endo folgendermafsen: »Fuchsin besteht wesentlich aus salzsaurem Rosanilin $C_{20}H_{19}N_3HCl$. Rosanilin ist eine farblose sog. Leukobase, die mit verschiedenen Säuren, wie Milchsäure, Salzsäure etc., einen roten Farbstoff bildet. Der Säurekomponent des roten Rosanilinsalzes wird durch Reduktionsmittel, wie Natriumsulfit, leicht reduziert. Das dadurch entfärbte

*) Zitiert nach Berghaus.[7])

Rosanilin verbindet sich mit der durch Kolibakterien produzierten Säure und der Nährboden färbt sich schön rot.«

Von dieser Erfahrung ausgehend, konnte nun die Herstellung eines geeigneten Nährsubstrates keine erheblichen Schwierigkeiten bereiten, wenn nur statt des Milchzuckers der für den Typhusbazillus angreifbare Traubenzucker verwandt wurde. Die Agarlösung wurde in der üblichen Weise hergestellt, indem zu 2 l Wasser 80 g Agar, 20 g Liebigs Fleischextrakt, 20 g Pepton Witte und 10 g Kochsalz gefügt, im Autoklaven bis zur Lösung erhitzt und durch Watte filtriert wurden. Zu diesem Gemisch wurden darauf 20 g Traubenzucker, 20 ccm 10 proz. Sodalösung, 10 ccm 10 proz. alkoholische Fuchsinlösung und 5 g Natriumsulfit (in 50 ccm kochendem Wasser gelöst) hinzugesetzt. Diese Flüssigkeit wurde nun vor dem Gebrauch in grofse Doppelschalen ausgegossen und zeigte nach dem Erstarren den dem Endoschen Nährboden eigentümlichen zarten rosa Farbenton.

Der Unterschied zwischen Typhus- und Alkaligeneskolonien auf diesem Nährsubstrat ist ein eklatanter und gestattet mühelos das Auffinden und Identifizieren der einzelnen Individuen. Während erstere dunkelrote Ansiedelungen mit grünlich schillernder Oberfläche bilden, treten letztere als glasige, klare, im auffallenden Lichte leicht rosa gefärbte Kolonien auf. Der weiteren Verwendung dieses Nährmediums stellten sich jedoch bald neue Schwierigkeiten entgegen, indem die längere Zeit künstlich fortgezüchteten Alkaligenesbazillen im Oberflächenausstrich entweder gar kein oder nur ein höchst kümmerliches Wachstum zeigten, während sich die frisch aus Fäzes isolierten Keime immer kräftig und charakteristisch entwickelt hatten. Dieses Verhalten ging soweit, dafs in Typhus-Alkaligenesgemischen, welche neben 5500 Fäkales nur 50 Eberthsche Stäbchen enthielten, nur letztere sich auf dem Traubenzuckerfuchsinagar nachweisen liefsen. Alle Versuche, diesem Übelstande durch Änderung des Alkaleszenzgrades sowie der Konzentration der einzelnen Zusätze (Agar, Traubenzucker, Natriumsulfit etc.) abzuhelfen, schlugen fehl. Erst als ich ein mit Sublimat getränktes Stückchen Filtrierpapier in den Deckel der Doppelschale gelegt hatte, erhielt ich eine geringe

Verbesserung der Resultate und wurde dadurch zugleich auf die Verwendung eines die Feuchtigkeit mehr zurückhaltenden Nährsubstrates als zweckmäfsig hingewiesen. Ein solches Medium ist uns aber in der Gelatine gegeben, welche bekanntlich beim Erstarren nicht wie Agar Wasser ausprefst.

In der Tat bewiesen die in der Folge mit Gelatine angestellten Versuche, dafs auch die bereits längere Zeit künstlich fortgezüchteten Alkaligenesbazillen im Oberflächenausstrich noch gut zur Entwicklung kamen. Traubenzucker, Fuchsin und Natriumsulfitlösung wurden der gewöhnlichen, schwach alkalischen Nährgelatine in gleichen Mengen wie oben dem Agar zugesetzt; das Material wurde mit einer Platinöse oder Nadel in Form mehrerer Impfstriche auf die Oberfläche der erstarrten Gelatine gebracht. Nach zwei Tagen waren die Alkaligeneskeime als durchsichtige, glasige Kolonien sichtbar, während die Typhusbazillen dunkelrote, im auffallenden Lichte grünlich schillernde Ansiedelungen bildeten. Dabei liefs sich eine bemerkenswerte Erscheinung beobachten. Sehr oft traten bei einer Reihe der farblosen Alkaligeneskolonien nach 4—5 Tagen dunkelrote Pünktchen auf, welche aus der Mitte der Fäkalisansiedelungen herausgewachsen waren und sich als Typhusbazillen identifizieren liefsen. Diese häufige Symbiose, welche sich auf der Traubenzucker-Fuchsingelatine mühelos erkennen läfst, mahnt einerseits, wie auch Berghaus betont, zur gröfsten Vorsicht bei der Isolierung unserer Bakterien, würde es aber anderseits als sehr leicht möglich erscheinen lassen, dafs die Ausgangskulturen Altschülers aus einem Gemische von Typhus- und Fäkalisbazillen bestanden.

Schliefslich verwandte ich den Traubenzucker, die Fuchsin- und Natriumsulfitlösungen in den bereits genannten Mengen auch als Zusatz zu der gewöhnlichen, leicht alkalischen Nährbouillon und erzielte auch hier dieselben Wachstumsunterschiede wie auf Agar und Gelatine. Während der Alkaligenes nur ein oberflächliches Häutchen mit leichter Trübung bildet, die Flüssigkeit im übrigen aber unverändert läfst, ruft

der Typhusbazillus einen tiefdunkelroten Farbenwechsel hervor. Besonders wichtig war diese Tatsache für meine Untersuchungen insofern, als mir die Traubenzucker-Fuchsinbouillon im Verein mit der Lackmusmolke die Möglichkeit in die Hand gab, mich jederzeit über die Lebensfähigkeit der Typhus- und Alkaligenesbazillen in Mischkulturen vergewissern zu können. Dies erschien um so wünschenswerter, als die ausschliefsliche Verwendung der Gelatine erst nach mehrtägiger Beobachtung ein abschliefsendes Urteil erlaubt, während in den flüssigen Nährmedien beide Bakterienarten in der Regel eine gröfsere Wachstumsenergie zeigten. Während nun der Alkaligenes in Lackmusmolke, trotz gleichzeitiger Einsaat einer bedeutend gröfseren Menge von Typhusbazillen, seine Gegenwart durch kräftige Alkalibildung kundzugeben pflegt und dadurch eine Verdrängung der anderen Bakterienart vorzutäuschen vermag, kann ebenso in der Traubenzucker-Fuchsinbouillon schon eine geringe Quantität Eberthscher Stäbchen die charakteristische dunkelrote Verfärbung hervorrufen und dadurch die Anwesenheit der ursprünglich weit zahlreicheren Fäkalisbazillen verdecken. Eine Typhusreinkultur färbt also die Fuchsinbouillon dunkelrot, säuert Lackmusmolke schwach und läfst sie klar; eine Alkaligenesreinkultur bildet in der Fuchsinbouillon nur ein oberflächliches Häutchen, verfärbt sie aber nicht und bläut Lackmusmolke kräftig; ein Typhus-Alkaligenesgemisch schliefslich färbt die Fuchsinbouillon dunkelrot und Lackmusmolke blau.

Das schon oben erwähnte Verhalten in Milch, sowie in der Traubenzucker-Fuchsinbouillon zeigten aufser dem als Testkultur dienenden Petruschkyschen Stamme noch zwei andere aus den Fäzes typhusverdächtiger Personen gezüchtete, sowie ein aus einer frischen Kartoffel isolierter Alkaligenes. Von ersteren erregte meine besondere Aufmerksamkeit ein Stamm (Do.), insofern er auf Agar einen gelblichen Farbstoff produzierte. Da er sich indessen in seinem Wachstum in Milch, welche nach 7 Tagen intensiv gelb gefärbt wurde, ferner in Lackmusmolke, Fuchsin-

bouillon, auf Kartoffeln etc. in nichts von der Testkultur unterschied, zögerte ich nicht, ihn als besondere farbstoffbildende Varietät der Gruppe der Fäkales zuzuzählen. Näher stand dem Alkaligenes Petruschky der aus einer Kartoffel isolierte Stamm (Ka.), der die Gelbfärbung der Milch weniger ausgesprochen, aber immerhin noch deutlich erkennbar hervorzurufen imstande war, während er in den anderen Nährsubstraten durchaus die typische Entwickelung zeigte. Einen anderen aus Fäzes gezüchteten Bazillus dagegen konnte ich trotz seiner Fähigkeit, in Lackmusmolke Alkali zu bilden, nicht unbedingt als Faecalis alcaligenes ansprechen. Zwar zeigte auch er im offenen Schenkel des Smithschen Gährungsröhrchens aerobes Wachstum, doch sank das Oberflächenhäutchen beim Schütteln nicht, wie ich sonst regelmäfsig beobachten konnte, als zusammenhängende Masse zu Boden, sondern löste sich in feine Flöckchen auf. Aufserdem trat die Blaufärbung der Lackmusmolke erst nach 48 Stunden und ohne Häutchenbildung auf, die Gelbfärbung der Milch schliefslich blieb ganz aus. Auf Grund dieser Tatsachen glaubte ich dieses Bakterium nicht als typischen Alkaligenes, vielmehr nur als entfernteren Angehörigen der Fäkalisgruppe betrachten zu müssen.

In Übereinstimmung mit diesen Erfahrungen standen die Ergebnisse der Untersuchungen, welche mir über den Einflufs eines hochwertigen, den Alkaligenes Petruschky in einer Verdünnung 1 : 100 000 agglutinierenden Serums auf die anderen Stämme Aufklärung bringen sollten. Es zeigte sich, dafs alle von dem Serum nicht agglutiniert wurden. Auf Grund dieses Verhaltens der einzelnen Alkaligenesstämme zu einem monovalenten Serum, sowie der bereits geschilderten Wachstumsdifferenzen kam ich, ebenso wie Altschüler, Doebert, Berghaus und Trommsdorff, zu dem Resultate, dafs die Bacilli faecales alcaligenes keine einheitliche Bakterienart sind, sondern vielmehr eine Gruppe bilden, ähnlich der grofsen Gruppe der Kolibakterien.

Während sich die bisherigen Untersuchungen mit der Herstellung eines spezifischen, die Isolierung der Typhus- und Alkali-

genesbakterien leicht und sicher ermöglichenden Nährbodens, sowie dem vergleichenden Studium einiger Fäkalisstämme verschiedener Herkunft beschäftigt hatten, sollten die folgenden die Beobachtung beider Bakterienarten in einem gemeinsamen Kulturmedium zum Gegenstande haben. Die Berücksichtigung des absoluten Sauerstoffbedürfnisses des Alkalibildners hätte eigentlich ohne weiteres anaerobe Züchtungsversuche als überflüssig erscheinen lassen können, doch weisen die weiter unten mitgeteilten Ergebnisse auf das Irrige dieser Annahme hin.

Zunächst wurden Typhus- und Alkaligenesbazillen zusammen bei ungehindertem Luftzutritt in Bouillon- und Schrägagarröhrchen, welche lediglich durch sterile Wattebäuschchen vor Verunreinigung geschützt waren, gezüchtet und 4 Monate lang beobachtet. Alle 4 Wochen wurden Proben dieser Mischkulturen auf Traubenzucker-Fuchsingelatine, sowie in Lackmusmolke und Fuchsinbouillon übergeimpft. Aus den Agarkulturen, welche neben den Eberthschen Stäbchen die gleiche, doppelte, fünf- und zehnfache Menge von Alkaligenesbazillen enthielten, liefsen sich beide Bakterienarten noch nach Verlauf von 4 Monaten mit Hilfe der genannten Methoden isolieren. Ein Überwuchern des einen Mikroorganismus hatte also nicht stattgefunden, erscheint indessen bei längerer Beobachtung nicht ausgeschlossen nach dem Befunde von Berghaus, der aus der Doebertschen Original-Alkaligeneskultur nach $^3/_4$ Jahr nur noch den Alkaligenes zu isolieren vermochte.

Die Ergebnisse der Züchtung in gewöhnlicher Nährbouillon veranschaulicht die nachstehende Tabelle:

Mitte XI 1906		Mitte XII 1906		Mitte I. 1907		Mitte II. 1907		Mitte III 1907	
	Einsaat in 1 Röhrchen Bouillon	Typhus	Alcaligenes	Typhus	Alcaligenes	Typhus	Alcaligenes	Typhus	Alcaligenes
I	250 Typhus + 55 Alcaligenes	[illegible]	[illegible]	+	+	+	+	0	+
II	500 » + 550 »	[illegible]	[illegible]	+	+	+	+	0	+
III	500 » + 275 »	[illegible]	[illegible]	+	+	0	+	0	+
IV	500 » + 5500 »	[illegible]	[illegible]	+	+	+	+	[illegible]	+
V	500 » + 2750 »	[illegible]	[illegible]	+	+	0	+	0	+
VI	50000 » + 5500 »	[illegible]	[illegible]	+	+	0	+	0	+

Wie aus diesen Ergebnissen hervorgeht, scheint bei der Symbiose von Typhus- und Alkaligenesbazillen der Beschaffenheit des Nährsubstrates eine grofse Bedeutung zuzukommen. Während auf dem festen Agarboden die Typhusbakterien sich noch nach 4 Monaten gegenüber einer gleichzeitig eingesäten zehnfachen Menge der Alkalibildner zu behaupten vermocht hatten und mühelos aus dem Gemisch isolieren liefsen, finden wir ein anderes Verhalten in der flüssigen Nährbouillon. Hier gelang mir schon nach 3 Monaten in der Hälfte der Proben trotz mehrfacher Versuche der Nachweis der Eberthschen Stäbchen nicht mehr. Nach 4 Monaten glückte die Isolierung desselben dann nur noch aus einer einzigen Mischkultur, und auch hier wäre wohl, wie sich mit Rücksicht auf die übrigen Ergebnisse mit gröfster Wahrscheinlichkeit folgern läfst, ein vollkommenes Überwuchern des Fäkalis das Endresultat gewesen. Der Alkaligenes machte also in der Bouillon nach Verlauf von 3—4 Monaten den Nachweis der Typhusbazillen unmöglich, hatte sie demnach überwuchert. Die Menge der eingesäten Mikroorganismen schien bei diesem Prozefs ohne Bedeutung zu sein. Während in der Probe VI, welche die Eberthschen Stäbchen in fast zehnfacher Übermacht enthielt, diese schon nach 3 Monaten verschwunden waren, liefsen sich in der Probe IV, welche umgekehrt die Alkalibildner in über fünffacher Zahl aufwies, beide Bakterienarten noch nach 4 Monaten ohne besondere Schwierigkeit nachweisen.

Die Entscheidung, wie weit an diesem Vorgang einerseits eine in Bouillon vielleicht vermehrte Wachstumsenergie des Alkaligenes und anderseits eine herabgesetzte Entwicklung der Typhusbakterien teil haben, läfst sich kaum treffen. Vermutlich werden beide Faktoren in Betracht zu ziehen sein. Jedenfalls bleibt es eine interessante Tatsache, welche geeignet ist, uns die Züchtungsergebnisse Altschülers zu erklären. Altschüler züchtete Typhusbazillen auf sterilen Plazentastückchen, einem an sich schon stark wasserhaltigen Material, welches überdies durch Hinzufügung physiologischer Kochsalzlösung vor dem Eintrocknen geschützt wurde. Wenn nun seine Ausgangskultur keine Rein-

kultur war, sondern bereits geringste mit den gewöhnlichen Methoden nicht nachweisbare Beimengungen von Alkaligenesbazillen enthielt, so wird es nach meinen Versuchen verständlich, wie sich die Alkalibildner auf dem ihnen besonders zusagenden Nährboden allmählich vermehren und die Typhusbazillen trotz ihrer anfänglichen Überzahl immer mehr zurückdrängen konnten. Ein vollkommenes Überwuchern, wie es ja auch von mir nach 4 Wochen noch nicht beobachtet wurde, war dabei keineswegs notwendig, um eine Reinkultur vorzutäuschen. Wie erwähnt, vermögen bereits geringe Mengen von Fäkalisbazillen trotz gleichzeitiger Anwesenheit einer bedeutend gröfseren Zahl Eberthscher Stäbchen in der Lackmusmolke Alkali zu bilden und sie blau zu färben. Ein ähnliches Gemisch vermag auch auf Kartoffeln den für den Alkaligenes charakteristischen gelbbraunen Belag zu bilden. Auf denselben Vorgang läfst sich vielleicht auch das Ausbleiben der Agglutination zurückführen, indem die Alkalibildner durch ihre Überzahl die Bildung kleinster Häufchen verdecken. Da Altschüler lediglich diese genannten drei Proben zur Prüfung seiner Kulturen verwandte, und durch ungünstige Wachstumsbedingungen abgeschwächte Fäkales erst nach ca. 8 Tagen durch Blaufärbung der Lackmusmolke ihre Gegenwart anzeigen, so konnte ihm einerseits ihre Anwesenheit anfangs leicht entgehen und mufste er anderseits später zu der Ansicht kommen, dafs ihm die Umzüchtung von Typhus- in Alkaligenesbazillen gelungen wäre.

Während die bisherigen Untersuchungen zu dem Ergebnis geführt hatten, dafs der Alkaligenes bei unbehindertem Luftzutritt in einem flüssigen Nährsubstrat den Typhusbazillus nach 3—4 Monaten zu überwuchern imstande ist, ergaben die folgenden, unter anderen Bedingungen angestellten Versuche entgegengesetzte Resultate. Zunächst wurden beide Bakterienarten wiederum auf Agar in der Weise zusammengezüchtet, dafs auf 24stündige Typhus- resp. Alkaligenes-Schrägagarkulturen je eine Öse (2 mg) einer 24stündigen Alkaligenes- resp. Typhusbouillon geimpft wurde. Die Röhrchen wurden darauf zugeschmolzen

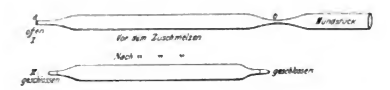
und bei Zimmertemperatur gehalten. Wie eine schon in den nächsten Tagen deutlich sichtbare, inselförmige Erhebung auf den Agarrasen bewies, hatten sich zunächst sowohl die Fäkales, vermöge des in den Röhrchen zurückgebliebenen Sauerstoffrestes, als auch die Eberthschen Stäbchen kräftig entwickelt. Nach $^1/_2$ Jahre wurden dann die Röhrchen geöffnet und auf die oben bereits beschriebene Art mehrfach untersucht. Die Prüfung aller Kulturen ergab jetzt ausnahmslos, dafs die Alkaligenesbazillen vollständig zugrunde gegangen, die Typhuskeime hingegen lebensfähig geblieben waren.

Zur Erklärung dieses Befundes liegt es natürlich am nächsten, auf das absolute Sauerstoffbedürfnis des Alkaligenes hinzuweisen, welches in Verbindung mit dem relativ wasserarmen und darum vielleicht weniger günstigen Nährsubstrate das Absterben des Bazillus infolge des Luftabschlusses zur Folge gehabt haben könnte. Indessen darf nicht vergessen werden, dafs ein immerhin nicht unbedeutender Sauerstoffrest in den Röhrchen geblieben war, so dafs die genannten Momente höchstens eine Abschwächung, nicht aber eine völlige Abtötung begründen würden. Eine solche liefse sich wohl eher auf die in den Gefäfsen angesammelte Kohlensäure zurückführen, welche nach Berghaus' Angabe den Fäkalis binnen kurzer Zeit zu vernichten imstande ist. Da der Typhusbazillus sich auf Agar bekanntlich sehr üppig entwickelt und letzteres wegen seines Reichtums an Kohlehydraten der Säurebildung besonders günstig ist, so dürfte die Menge der entstandenen Kohlensäure, über deren Produktion Weyland[13]) genauere Angaben gemacht hat, nicht unbeträchtlich sein und jedenfalls als genügend betrachtet werden, um die ohnehin abgeschwächten Alkaligenes vollends abzutöten.

Die Züchtung in Bouillon unter Luftabschlufs nahm ich in besonderen Röhrchen (s. Figur) vor, welche ich mir nach Herrn Professor Forsters Angaben zu diesem Zwecke selbst anfertigte.

Die in der Flamme zu Kapillaren ausgezogenen Röhrchen setzen sich an dem einen Ende (*b*), wie aus Fig. I ersichtlich

ist, in ein breiter werdendes Mundstück fort, welches der Sicherheit wegen mit einem Wattebäuschchen verschlossen werden kann. Ebenso wird das offene Kapillarende (*a*) mit Watte umwickelt, so daſs die Röhrchen nun im Trockenraum sterilisiert und nachher bis zum Gebrauch aufbewahrt werden können. Die Füllung geschieht in der Weise, daſs das offene Kapillarende (*a*) in die mit Bakterien geimpfte Nährflüssigkeit getaucht und diese nun vom Mundstück aus bis in die Verbindungskapillare (*b*) hineingesogen wird. Durch Druck des Zeigefingers auf die Saugöffnung wird ein Zurückströmen der Flüssigkeit verhindert. Zum Schluſs wird zuerst das offene Kapillarende (*a*) und darauf die Verbindungskapillare (*b*) in der Flamme zugeschmolzen, wodurch zugleich die Abtrennung des nun entbehrlich gewordenen Mund-



stückes erfolgt. Erfolgt die Füllung und Schlieſsung des Röhrchens in sorgfältiger Weise, so erhält man einen völlig genügenden Luftabschluſs, abgesehen von den in der Nährflüssigkeit selbst und etwaigen an den Enden des Röhrchens zurückgebliebenen minimalen Sauerstoffresten. Indes haben sich letztere mir nicht störend bemerkbar gemacht; wenigstens zeigte der Tetanusbazillus, der Typus eines obligaten Anaerobiers, in diesen Röhrchen kräftiges Wachstum. Die Öffnung erfolgt in der Weise, daſs man unter Beobachtung aseptischer Kautelen an beiden Enden mit einer scharfen Feile Einkerbungen macht, worauf sich die Spitzen leicht entfernen lassen. Eine weitere Benutzung ist nach einmaliger Öffnung natürlich nicht mehr möglich.

Typhus- und Alkaligenesbazillen zeigen bei Züchtung in diesen Röhrchen ein durchaus verschiedenes Verhalten. Während erstere schon nach 24 Stunden eine kräftige Trübung der Bouillon bewirken, lassen letztere sie vollkommen klar. Die Vernichtung der eingeschlossenen Fäkales erfolgt zunächst rapide. Von ungefähr 5000000 Keimen lieſsen sich nach 12 Tagen nur noch 10—50

nachweisen. Eine weitere Abnahme erfolgte indessen nicht, vielmehr liefs sich noch nach 4 Wochen und selbst nach fast 5 Monaten die gleiche Anzahl Keime feststellen. Es hatte also der Alkaligenes, wie es bereits Willimsky[14]) für die aeroben Bakterien zu zeigen vermochte, seine Lebensfunktionen auf die in dem Nährsubstrat enthaltenen minimalen Spuren von Sauerstoff eingestellt und gewissermafsen ein latentes Dasein geführt, um sich dann beim Eintritt günstiger Wachstumsbedingungen weiter zu entwickeln. Wir haben es bei diesem Vorgange mit der bekannten, durch mehrere aus dem hiesigen Institute hervorgegangene Arbeiten bewiesenen Erfahrung zu tun, dafs sich in jeder Kultur besonders widerstandsfähige Individuen finden, welche dazu berufen sind, die Forterhaltung der Art unter abnormen Lebensverhältnissen zu sichern. So konnte Brehme[15]) nachweisen, dafs in Typhus- und Cholerabouillonkulturen die einzelnen Keime der Einwirkung der Kälte verschieden lange widerstehen. Ein ähnliches Verhalten stellten E. Levy und Bruns[16]) im Anschlufs an Beobachtungen von Professor Forster für die Tetanussporen gegenüber der Erhitzung auf 100° fest. Zu gleichen Ergebnissen gelangte Schmidt[17]) bei seinen umfangreichen, unter Leitung von Professor Forster ausgeführten Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Rauschbrandsporen gegenüber Hitze. Schliefslich konnte Fornet[18]) ein verschiedenes Resistenzvermögen für die einzelnen Organismen einer Typhusbouillonkultur gegenüber der bakteriziden Wirkung der Galle dartun. Die von mir gemachte Beobachtung über das Verhalten des Alkaligenes gegenüber Luftabschlufs würde demnach als weitere Bestätigung dieser Erfahrungen zu gelten haben.

Die Ergebnisse der Einzelzüchtungsversuche in den Anaerobenröhrchen berechtigten natürlich einen Schlufs auf das Verhalten beider Bakterienarten in der Symbiose nicht. Indessen zeigten die in dieser Richtung angestellten Versuche, dafs der Alkaligenes vom Typhusbazillus auch nach längerer Zeit nicht überwuchert wird. Die Anaerobenröhrchen wurden mit ca. 5000000 Fäkales und ebensoviel Eberthschen Stäbchen beschickt und bei Zimmertemperatur gehalten.

Noch nach 4 Monaten liefsen sich neben den Typhuserregern Alkalibildner ohne Schwierigkeit nachweisen. Auch hier wieder ist die Bedeutung, welche die Zusammensetzung des Nährsubstrates für die Lebensfähigkeit der Bakterien hat, unverkennbar. Während in den zugeschmolzenen Agarröhrchen ein vollständiges Absterben der Alkaligenes erfolgte, lassen sich aus den bei weitem weniger Luft enthaltenden Bouillonröhrchen noch lebensfähige Keime züchten. Dafs zwar auch hier eine Abschwächung der übrig gebliebenen Individuen erfolgte, ist wohl zweifellos. Dafür spricht vor allem die von mir mehrfach beobachtete Tatsache, dafs bei einzelnen Proben die Alkalibildung in Lackmusmolke nicht sofort eintrat, wie es sonst die Regel ist, sondern erst nach 8 Tagen deutlich sichtbar wurde. Indessen fallen die bei den Agarkulturen aufserdem hinzukommenden schädigenden Einflüsse hier kaum oder nicht wesentlich ins Gewicht, indem der Typhusbazillus sich in Bouillon weniger üppig als auf Agar entwickelt und in ihr bei weitem nicht so günstige Bedingungen für die Kohlensäurebildung vorfindet als auf dem kohlehydratreichen, festen Nährsubstrat. Diese Erwägungen würden es erklären, dafs es in den Bouillon-Anaerobenröhrchen bei der Symbiose von Typhus- und Alkaligenesbazillen zwar zu einer Abschwächung der letzteren, aber nicht zu einer völligen Abtötung kommt.

Die Anwendung dieser Erfahrungen zur Erklärung der Altschülerschen Beobachtungen ist nicht ohne weiteres statthaft, da die Versuche unter Luftabschlufs, also unter aufsergewöhnlichen Bedingungen ausgeführt wurden, was bei den Untersuchungen Altschülers nicht der Fall war. Immerhin dürfte auch hier eine Verwertung meiner Ergebnisse sich ermöglichen lassen. Meine Untersuchungen zeigten, dafs es bei der Symbiose von Typhus- und Alkaligenesbazillen unter bestimmten Umständen einerseits zu einer völligen Abtötung, anderseits aber auch zu einer deutlichen Abschwächung kommen kann. Es wäre nun sehr wohl denkbar, dafs es noch eine ganze Reihe anderer uns vorläufig unbekannter Einflüsse, chemischer oder physikalischer Natur, geben könnte, welche in ähnlicher Weise eine Verminderung der Lebenskraft des Alkaligenes hervorzurufen imstande

wären. Auf diese Weise liefse es sich erklären, wie die von Altschüler benutzte, mit wenig Typhusindividuen gemischte Alkaligenesausgangskultur durch unkontrollierbare schädigende Einflüsse abgeschwächt worden wäre und nun den Eberthschen Stäbchen freien Spielraum zur Entwicklung geboten hätte. Die regelmäfsig vorgenommenen Prüfungen mufsten sodann schliefslich zur irrigen Annahme führen, dafs eine Umwandlung der Alkaligenes in Typhusbazillen stattgefunden habe.

Die vorliegenden Untersuchungen ermöglichen es meines Erachtens, die mit Hilfe der gebräuchlichen Methoden gemachten, an und für sich richtigen, aber irrig gedeuteten Beobachtungen Altschülers zwanglos zu erklären. Ich konnte zeigen, dafs unter bestimmten, oben näher genannten Bedingungen in einem Typhus-Alkaligenesgemisch die eine oder die andere Bakterienart völlig verschwindet und dadurch die übrig bleibende als Reinkultur erhalten wird.

Strafsburg i. Els., April 1907.

Literaturverzeichnis.

1. Altschüler, Über die Beziehungen des Bacillus faecalis alcaligenes zu den Typhusbazillen. Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 20.
2. Doebert, Die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen dem Bacillus faecalis alcaligenes und dem Typhusbazillus. Archiv f. Hygiene, 1905, Bd. 52.
3. Conradi, Typhusbazillus und Bacillus faecalis alcaligenes. Münch. med. Wochenschr., 1905, Nr. 38.
4. Boit, Einfache und sichere Identifizierung des Typhusbazillus. Jena, 1905. Verlag von Gustav Fischer.
5. Berghaus, Die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen dem Bac. faecalis alcaligenes und dem Typhusbazillus. Hyg. Rundschau, 1905, Bd. 15, Nr. 15.
6. Trommsdorff, Typhusbazillus und Bacillus faecalis alcaligenes, zwei nicht verwandte Spezies. Münch. med. Wochenschr., 1905, Nr. 35.
7. Berghaus, Der Bacillus faecalis alcaligenes. Hyg. Rundschau, 1905, Bd. 15, Nr. 23.
8. Gaehtgens, Über die Bedeutung des Vorkommens der Paratyphusbazillen. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1907, Bd. 25.
9. Petruschky, Bakterio-chemische Untersuchungen. Zentralbl. f. Bakteriologie, 1889, Bd. 6.
10. —, Bacillus faecalis alcaligenes. Ebenda, 1896, Bd. 19.
11. Barsiekow, Beiträge zur Differentialdiagnose des Typhusbazillus. Wiener klin. Rundschau 1901, Nr. 41.
12. Endo, Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zentralblatt f. Bakt., 1903, Bd. 35.
13. Weyland, Zur Differenzierung der Typhusbazillen von typhusähnlichen Bakterien. Archiv f. Hygiene, 1892, Bd. 14.
14. Willimsky, Über das Verhalten der aeroben Keime gegenüber der absoluten Sauerstoffentziehung. Archiv f. Hyg., 1905, Bd. 54.
15. Brehme, Über die Widerstandsfähigkeit der Choleravibrionen und Typhusbazillen gegenüber niederen Temperaturen. Archiv f. Hyg., Bd. 40.
16. E. Levy und Bruns, Über den Gehalt käuflicher Gelatine an Tetanuskeimen. Deutsche med. Wochenschr., 1902, Nr. 28.
17. Albert Schmidt, Über das Verhalten der Rauschbrandbazillensporen bei der Erhitzung. Inaug.-Dissertation. Strafsburg 1906.
18. Fornet, Über die Bakterizidie der Galle. Arch. f. Hyg., 1907, Bd. 60.

Nachtrag bei der Korrektur.

Nach Abschlufs meiner Untersuchungen erschien im Zentralblatt für Bakteriologie 1907, Bd. 43, S. 755—774, eine Arbeit »Die Gruppe des Bacillus faecalis alcaligenes« von Klimenko, durch welche einzelne meiner Angaben bestätigt werden. Auch K. konnte die Aufhellung und gelbe Verfärbung der Milch durch den Alcaligenes feststellen. Als eine dem Faecalis zwar nahestehende, aber immerhin selbständige Gruppe will er die des Bac. fluorescens non liquefaciens anerkannt wissen, hiervon aber den ein gelbes Pigment bildenden Stamm Petruschky III (vielleicht dem von mir aus einer Kartoffel gezüchteten Stamme Ka. entsprechend) als besondere Untergruppe ausschliefsen.

Über die Wirkung der Kohlensäure, des Sauerstoffs und des Wasserstoffs auf Bakterien bei verschiedenen Druckhöhen.

Von

Stabsarzt Dr. **Berghaus,**

früheren Assistenten am Institut.

(Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

I. Wirkung der Kohlensäure.

Vor ungefähr vier Jahren wurden auf Veranlassung des Herrn Geh. Rat Rubner von W. Hoffmann[1]) im hiesigen Institut eingehende Versuche »über den Einflufs hohen Kohlensäuredrucks auf Bakterien im Wasser und in der Milch« ausgeführt. Es ergab sich, dafs eine stationäre Einwirkung der Kohlensäure unter einem Druck von 5, 10 und 20 Atm. während 25 Stunden im Spreewasser vorhandene Keime derartig beeinflufste, dafs Gelatineplatten mit 1,0 bis 2,0 ccm des Wassers gegossen bei mehrtägiger Beobachtung keine bzw. nur ganz vereinzelte Kolonien auswachsen liefsen. So konnten z. B. bei einer anfänglichen Keimzahl von 8262 bzw. 20450 pro ccm nach einer 24stündigen Einwirkung von 5 bzw. 10 Atm. CO_2 keine, bei einem Druck von 20 Atm. von 7318 nur noch fünf lebensfähige Keime nachgewiesen werden. Allerdings erwiesen sich die angeführten Druckhöhen in ihrer Wirkung nicht so radikal bakterientötend, wenn dem unter dem Einflufs der CO_2 ge-

wesenen Wasser nachträglich flüssige Nährstoffe (Peptonlösung) zugesetzt wurde und somit optimale Lebensbedingungen geboten waren, so dafs auch abgeschwächte Keime wieder lebens- und vermehrungsfähig werden konnten, eine Eigenschaft, die die Nährgelatine bekanntermafsen vermissen läfst. Bei dieser neuen Versuchsanordnung zeigte sich ein 20 atmosphäriger CO_2-Druck mit 20stündiger Einwirkungsdauer niemals als ausreichend für die Sterilisierung des Wassers; wurde aber der CO_2-Druck auf ca. 50 Atm. erhöht, so blieb nach einer 22stündigen Einwirkung bei einer Temperatur zwischen 10 und 37° jedes Wachstum von Wasserbakterien auf festen Nährböden aus. Eine Verkürzung der Einwirkungsdauer verminderte den Effekt, bei nur sechsstündigem Druck von 50 Atm. war das Wasser nicht keimfrei. Weniger günstig waren die Resultate bei Verwendung von Kanalwasser. In diesem konnte zwar unter obigen Versuchsbedingungen eine bedeutende Verringerung der Keime von 2040010 auf 330, niemals aber Keimfreiheit erzielt werden.

Handelte es sich bei diesen Versuchen um Gemische verschiedener Bakterien, in überwiegender Mehrzahl saprophytischer Arten, so erwiesen sich wässrige Aufschwemmungen von pathogenen Bakterien, den Typhus-, Cholera- und Ruhrbazillen erheblich empfindlicher der CO_2 gegenüber. Typhusbazillen und Choleravibronen waren nach zweistündiger, Koli- und Ruhrbazillen nach dreistündiger Einwirkung einer 50atmosphärischen CO_2 nicht mehr entwicklungsfähig, trotzdem die üblichen Anreicherungsmethoden zur Anwendung gelangten.

Ohne merklichen Einflufs war die CO_2, wenn zu den Versuchen in Bouillon suspendierte Bakterien verwendet wurden, und zwar auch dann, wenn die Bouillonkulturen mit sterilem Leitungswasser verdünnt wurden. Es zeigte sich hier eine Erhöhung der Widerstandskraft der kleinen Lebewesen in eiweifshaltigen Flüssigkeiten, wie sie bereits seit langem bekannt ist, und bei jeder Resistenzprüfung der Bakterien gegenüber den Desinfektionsmitteln überhaupt in mehr oder minder hohem Mafse in die Erscheinung tritt. Ähnlich wie in der Bouillonkultur verhielten sich auch die Bakterien in der Milch. Durch

einen CO_2-Druck von 50 Atm. konnten sie nicht abgetötet werden; zwar war eine sehr starke Reduktion der Keimzahl zu konstatieren, ein Teil jedoch blieb stets lebenskräftig und wuchs auf den Gelatineplatten zu Kolonien aus.

Die günstigen Resultate, die bei der Einwirkung der CO_2 auf die im Wasser aufgeschwemmten Erreger des Typhus, der Cholera und der Ruhr erzielt wurden, gaben Veranlassung, diese Sterilisierungsmethode für praktische Zwecke in Erwägung zu ziehen. Ihrer Verwendung stellten sich aber schon von vornherein unüberwindliche Schwierigkeiten rein technischer Art entgegen, auf die ich hier nicht näher eingehen will.

An diese kurz skizzierten Versuche schliefsen sich die von mir angestellten an, sie bilden gewissermafsen ihre Fortsetzung. Handelte es sich bei den Versuchen Hoffmanns vornehmlich darum, für praktische Zwecke die flüssige Kohlensäure verwertbar zu machen, so ging mein Bestreben dahin, systematisch den Einflufs der Kohlensäure in abgestuften Konzentrationen auf eine gröfsere Anzahl von Bakterien zu prüfen.

Die Angaben in der Literatur über die Einwirkung der CO_2 auf die Bakterien unter einem erhöhten Druck sind bereits ausführlich in der Arbeit Hoffmanns zusammengestellt, so dafs es sich erübrigt, hier des Näheren auf sie einzugehen. Sie sind verhältnismäfsig spärlich und zum grofsen Teil auch widersprechend. Der Grund hierfür ist einerseits darin zu suchen, dafs derartige Versuche sich nur mit besonderen, kostspieligen Apparaten ausführen lassen, anderseits aber das Medium, in dem die Bakterien der CO_2 ausgesetzt wurden, bei den verschiedenen Untersuchungen nicht dieselbe Zusammensetzung aufwies. Welch weittragende Bedeutung aber gerade dieser Umstand hat, zeigen die oben besprochenen Versuche Hoffmanns mit Bouillonkulturen. Die Versuche d'Arsonvals[2]), der durch etwa 50 atmosphärische CO_2 eine Entwicklung der Bakterien in einer Flüssigkeit hemmen, ja diese sterilisieren konnte, konnten bei einer Nachprüfung Sabrazès und Bazin[3]) für Staphylococcus pyogenes aureus, Bacterium coli, Typhusbazillus und Milzbrand-

bazillus nicht bestätigen, sie bedienten sich aber zu ihren Versuchen Bouillonkulturen. Zu einem ähnlichen Resultat kamen Schaffer und Freudenreich[4]) gleichfalls für den Typhus- und Milzbrandbazillus. Die Bakterien zeigten sich weder in ihren sonstigen Lebensäufserungen, noch in ihrer Virulenz irgendwie beeinträchtigt, obgleich in den Versuchen der beiden letzten Autoren 7 Tage lang ein Druck von 47 Atm. CO_2 angewandt wurde. Auch durch gleichzeitige Temperatursteigerung konnte, wenn nicht schon an und für sich eine Abtötung durch diese bedingt war, die Wirkung der CO_2 nicht verstärkt werden. Weitere Versuche von d'Arsonval und Charrin[5]), die mit Pyocyaneuskulturen angestellt wurden, liefsen aber unzweideutig die Beeinflussung durch eine 50atmosphärische CO_2 erkennen. Nach zwei Stunden zeigte sich die Vermehrungsintensität, nach vier Stunden Einwirkung die Farbstoffbildung beschränkt, nach sechs Stunden wurde nur selten noch Wachstum beobachtet und nach 24 Stunden waren die Keime stets abgestorben. Milzbrandbazillen wurden bei einem gleichen CO_2-Druck nach 12 Stunden vernichtet.

Für die Praxis von Wichtigkeit sind die Beobachtungen, die über den Bakteriengehalt künstlicher kohlensaurer Wasser gemacht wurden. Künstliches Selterwasser ist gewöhnlich sehr keimreich (Sohnke([6]), Pfuhl([7]), Hochstetter([8])) und enthält oft 10000 und mehr Bakterien in 1 ccm. Befindet sich das Wasser unter einem hohen CO_2-Druck, so kommt es zwar häufig nach den Untersuchungen Leonés([9]), Sohnkes([6]), Scolas und Alessis([10]) zu einer Abnahme der Keime, sie ist jedoch abhängig von der Art der vorhandenen Bakterien. Durch den Genufs verunreinigten Selterwassers sind nachweislich Typhusepidemien entstanden (Hellwig([11]). Hochstetter fand sporenfreie Milzbrandbazillen schon nach einer Stunde, Choleravibrionen nach drei Stunden (und ganz ausnahmslos nach 24 Stunden), Typhusbazillen nach längstens fünf Tagen abgestorben; Milzbrandsporen waren noch nach fünf Monaten lebensfähig. Dräer([12]) konnte Choleravibrionen im Selterwasser hin und wieder noch nach 24 Stunden, nie nach zwei Tagen nachweisen.

Weit eingehender und systematisch behandelt sind die Untersuchungen über die Einwirkung der CO_2 bei normalem atmosphärischem Druck, wie ja auch wohl die bei diesen Versuchen gefundenen Resultate den Anstofs gegeben haben dürften zu den Untersuchungen bei erhöhtem Druck.

Wir sehen hier eine gröfsere Anzahl Bakterien in Reinkultur dem CO_2-Strom ausgesetzt, während in den oben angeführten Versuchen es sich vielfach um Gemische verschiedenartiger Bakterien handelt, die einwandfreie Beurteilungen nicht zulassen. Zum Zweck der Gegenüberstellung mit meinen Untersuchungsergebnissen seien hier die wichtigsten und einwandfreien Resultate kurz in tabellarischer Übersicht wiedergegeben. Die Untersuchungen fanden ihren Abschlufs in einer umfangreichen Versuchsreihe, die C. Fränkel[13] in einer Arbeit »Die Einwirkung der Kohlensäure auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen« niederlegte.

Zusammenstellung 1.

Einwirkung der CO_2 auf Bakterien ohne Druckerhöhung.

Autor	Bakterienart	Medium, in dem die Prüfung stattgefunden	Einwirkungsdauer	Wirkung
1. Pasteur und Joubert[14]	Milzbrandbazillen	—	—	abgestorben
2. Szpilmann[15]	dto.	Blut	24 Std.	»
3. Buchner[16]	a) Cholera-Vibrio	Fleischwasser	8 Tage	keine Vermehrg.
	b) Emmerichsch. B.	»	2 Tage	schwch. Wachst.
	c) Typhusbazillus	»		do.
4. Liborius[17]	a) Baz. des malignen Ödems	Nährgelatine	—	kein Wachstum
	b) Bac. polypifermis		—	do.
5. Schottelius[18]	Mikrococcus prodig.	Kartoffel	—	Verlust d. Farbstoffbildung
6. Frankland[19]	a) Bac. pyocyanens	Gelatineplatt.	5 u. 9 Tg.	abgestorben
	b) Cholera-Vibrio		4 u. 5 Tg.	»
	c) Vibrio Finkler		4 Tag.	»
7. Sirotinin[20]	a) Bac. typhi abd.	Gelatineröhrchen	—	langsamer u. wenig. starkes Wachstum
	b) Spir. Chol. asiat	do.	—	do.
	c) Spir. Finkler	do.	—	do.
	d) Staphylococc. alb.	do.	—	do.
	e) Bac. fluorescens liquef.	do.	—	starke Hemmung
	f) Bac. anthracis	do.	—	in CO_2-Atmos. kein Wachst., nachträgl. Entwickl. i. gew. Luft
	g) Bac. cunicularis	do.	—	do.
	h) Bac. murisept.	do.	—	do.

Fränkel, dessen Resultate in der folgenden Übersicht wiedergegeben werden, ging bei seinen Untersuchungen in der Weise vor, dafs er Reinkulturen von Bakterien in Gelatine bzw. Bouillon aussäte, erstere in der von Esmarch angegebenen Weise an den Wandungen ausrollte und durch diese Kulturröhrchen dann in den einem Kippschen Apparate aus Marmor und roher Salzsäure erzeugten CO_2-Strom leitete. Die Gelatine wurde vor ihrer Besäung in noch flüssigem Zustande durch einen CO_2-Strom von der in ihr befindlichen Luft befreit. Wenn die CO_2 eine bestimmte Reihe von Tagen, meist etwa 1—2 Wochen lang ununterbrochen den Nährboden um- bzw. durchspült hatte, wurde aus einem Gasometer gewöhnliche Luft durch die Gefäfse geleitet, um den bis dahin, d. h. während der CO_2-Einwirkung nicht zur Entwicklung gekommenen Keimen noch nachträglich günstige Lebensbedingungen zu verschaffen und die Auskeimung zu ermöglichen.

Zusammenstellung 2.
Einwirkung der CO_2 auf Bakterien nach C. Fränkel.

Lfd. Nr.	Bakterienart	Wirkung der CO_2
1.	Micrococcus prodigios.	entwicklungshemmend, Wachstum in CO_2-Atmosphäre ohne Farbstoffbildung.
2.	Bacillus indicus . . .	desgl.
3.	Gelbe Sarcine . . .	hervorragend entwicklungshemmend, kein Wachstum in CO_2-Atmosphäre.
4.	Orange Sarcine . . .	desgl.
5.	Heubazillus	desgl.
6.	Wurzelbazillus . . .	desgl.
7.	Bac. megatherium . .	desgl.
8.	Roter Baz. aus Wasser	desgl. und Verminderung der Keimzahl.
9.	Violetter Bazillus . .	desgl. desgl.
10.	Fluoreszierender Baz. .	desgl. desgl.
11.	Phosphoreszier. Bazill. (nicht verflüssigend)	nicht sonderlich hemmend, Verlust der Phosphoreszenz
12.	Proteus vulgaris . . .	Verlangsamung des Wachstums, Entwicklung auch in CO_2-Atmosphäre.
13.	Bact. Zopfii	desgl.

Fortsetzung der Zusammenstellung 2.
Einwirkung der CO_2 auf Bakterien nach C. Fränkel.

Lfd. Nr.	Bakterienart	Wirkung der CO_2
14.	Bazill. der blauen Milch	kein Wachstum in CO_2-Atmosphäre, nachträgliche Entwicklung in gewöhnlicher Luft.
15.	Bac. acid. lact. (Hüppe)	kein Einflufs.
16.	Bac. butyricus (Hüppe)	kein Wachstum in CO_2-Atmosphäre, nachträgliche Entwicklung in gewöhnlicher Luft.
17.	Rosa Hefe	desgl.
18.	Schwarze Hefe . . .	desgl.
19.	Weifsbierhefe . . .	Wachstum vortrefflich in CO_2-Atmosphäre.
20.	Milzbrandbazillus . .	während der CO_2-Einwirkung kein Wachstum, Abtötung eines Teils der Keime.
21.	Choleravibrio	desgl.
22.	Finklers Bazillus . .	desgl.
23.	Denekes Bazillus . .	desgl.
24.	Friedländers Pneumobacterium	kein Einflufs.
25.	Micrococcus tetragenus	beschränktes Wachstum in CO_2-Atmosphäre, bei Bruttemperatur besseres Wachstum.
26.	Baz. des Typh. abdom.	kaum ein Einflufs.
27.	Emmerichs Bazillus .	desgl.
28.	Briegers Bazillus . .	desgl.
29.	Staphylococc. pyog. aur.	entwicklungshemmend, nur b. Bruttemperatur beschränktes Wachstum.
30.	Staphylococc. pyog. alb.	desgl.
31.	Streptococcus pyogenes	desgl.
32.	Streptococc. erysipelat.	desgl.
33.	Bac. pyocyaneus . .	entwicklungshemmend, in CO_2-Atmosphäre kein Wachstum.
34.	Baz. d. Hühnercholera	desgl.
35.	Baz. d. Kaninchensepticämie	desgl.
36.	Baz. d. Schweineseuche	desgl.
37.	Baz. d. Mäusesepticäm.	entschieden entwicklungshemmend, teilweise abtötend.
38.	Baz. d. Schweinerotlauf.	desgl.
39.	Rauschbrandbazillus .	entwicklungshemmend, kein Wachstum in CO_2-Atmosphäre.
40.	Bac. d. malignen Ödems	desgl.

Beide Zusammenstellungen zeigen unzweideutig, dafs auch bei atmosphärischem Druck die Kohlensäure für die Bakterien kein indifferentes Gas ist. Bei den Bakterienarten der ersten Tabelle tritt überall die entwicklungshemmende Eigenschaft deut-

lich zutage, die bei einzelnen sich direkt bis zur Abtötung steigert. Dafs bei den Autoren bezüglich ein und derselben Bakterienart vielfach das Urteil anders lautet, darf nicht wundernehmen, wenn man in Betracht zieht, dafs schon geringe Differenzen in der Zusammensetzung der Medien, in denen die Bakterien während des Versuchs sich befanden, die Resistenz beeinflussen können. Aber ein weiteres fällt in der Zusammenstellung sofort auf, das ist die verschiedene Widerstandsfähigkeit verschiedener Bakterienarten bei demselben Untersucher unter Anwendung derselben Versuchsbedingungen, eine Beobachtung, die in eklatanter Weise durch die eingehenden Untersuchungen Fränkels bestätigt wurde. Wenn auch in diesen genaue quantitative Abmessungen über die CO_2-Wirkung nicht gegeben werden, dazu wäre eine Bestimmung der Keimzahl notwendig gewesen, so gibt die grofse Zahl der geprüften Keimarten immerhin schon ein klares Bild über den graduellen Einflufs des Gases. Eine Anzahl von Mikroorganismen vermag im Kohlensäurestrom zu fast ebenso schneller und ausgiebiger Entwicklung zu kommen, wie in der gewöhnlichen Atmosphäre, so der Bacillus Typhi abdominalis, der Emmerichsche und der Briegersche Bacillus, das Friedländersche Pneumobakterium,der Hueppesche Bazillus der Milchsäuregährung, ferner auch die echte Bierhefe.

Viele andere keimen in reiner CO_2-Luft wohl aus, aber ihr Wachstum ist sowohl quantitativ beschränkt, als auch erleidet es der Zeit nach erhebliche Verzögerung, wie Kontrollkulturen erwiesen. Hierher gehören der M. prodigiosus, der Bac. indicus, der Proteus vulgaris, der Bac. phosphorescenz.

Eine dritte Gruppe ist dadurch charakterisiert, dafs sie imstande ist, dem Einflufs der CO_2 nur bei Unterstützung durch optimale Temperaturverhältnisse zu paralysieren. Zu diesen gehört der M. tetragenus, die Bakterien der Hühnercholera, Schweineseuche, Kaninchenseptikaemie, des Schweinerotlaufs und der Mauseseptikaemie, der Streptococcus pyogenes und der des Erysipels, der Staphylococcus aureus und albus.

Die letzte Gruppe umfafst die gröfste Anzahl der Bakterien, sowohl saprophytische als pathogene Arten, unter diesen den

Milzbrandbazillus und Choleravibrio. Die CO_2 erweist sich hier als ein unbedingt entwicklungshemmendes Agens, indem während ihrer Einwirkung es niemals zu einer Vermehrung, d. h. einem Auswachsen zu Kolonien kam. Diese entwicklungshemmende Eigenschaft steigerte sich bei einigen Keimarten in eine abtötende. Bouillonkulturen, z. B. von Milzbrandbazillen und Choleravibrionen, zeigten Keimverminderung um das Hundert- bis Tausendfache, wenn sie einige Tage (5) dem CO_2-Strom ausgesetzt gewesen waren. Der Bazillus Deneke war sogar nach drei Tagen abgetötet. In charakteristischer Weise tritt die bakterienschädliche Wirkung der CO_2 zutage bei den Versuchen Fränkels, anstatt in einer wasserstoff- in einer kohlensäurehaltigen Atmosphäre anaerobe Bakterien zu züchten: das Wachstum blieb aus.

Bei meinen Versuchen wurden folgende Bakterienarten der Einwirkung der CO_2 ausgesetzt:

1. 1 Cholera-Stamm,
2. 1 Milzbrand-Stamm,
3. 3 Typhus-Stämme,
4. 4 Koli-Stämme,
5. 3 Bac. faecalis alcaligenes-Stämme,
6. 1 Enteritis-Gärtner-Stamm,
7. 1 Dysenterie Shiga-Kruse-Stamm,
8. 1 Dysenterie Flexner-Stamm,
9. 1 Paratyphus A-Stamm,
10. 1 Paratyphus B-Stamm,
11. 1 Staphylococcus pyogenes aureus-Stamm,
12. 1 Bacillus pyocyaneus-Stamm,
13. 1 Proteus vulgaris-Stamm.

Zur Untersuchung gelangten möglichst lebenskräftige Keime, und zwar wurden sie ausnahmslos 20—24 stündigen Bouillonkulturen entnommen. Von diesen wurden ein bis zwei Osen auf der Oberfläche frisch gegossener Agarplatten ausgestrichen. Die so beschickten Schalen blieben in den weiter unten näher zu beschreibenden Behältern bei verschiedenem Druck je 24 Stunden

offen in der CO_2-Atmosphäre bei Bruttemperatur stehen, um dann ebenfalls im Brutschrank in der gewöhnlichen atmosphärischen Luft weiter beobachtet zu werden, falls sich nicht schon unter der CO_2-Einwirkung kräftiges Wachstum gezeigt hatte. Das Gas wurde Bomben entnommen, wie sie im Handel käuflich zu haben sind und heutzutage fast in jeder Bierwirtschaft verwendet werden.

Wie sich aus dieser Versuchsanordnung ohne weiteres ergibt, war der Grundgedanke meiner Versuche festzustellen, in welcher Konzentration die CO_2 einen entwicklungshemmenden bzw. abtötenden Einflufs auf die Bakterien auszuüben imstande sei. Der Umstand, dafs in ein und derselben Kultur Keime verschiedener Resistenz sind, blieb unberücksichtigt; für die Beurteilung der CO_2-Wirkung war ausschliefslich mafsgebend, ob Wachstum eintrat oder nicht, somit stellen meine Versuche Desinfektionsversuche optima forma dar, allerdings insofern abweichend von den üblichen Methoden, als bei gleichbleibender Einwirkungsdauer die Konzentration des Mediums geändert wurde.

Das Verhalten der aufgeführten Bakterienarten gegenüber der CO_2 bei gewöhnlichem atmosphärischem Druck prüfte ich in dem bekannten, von Bischoff(2) modifizierten Apparat zur Züchtung anaerober Bakterien. Nachdem längere Zeit (ca. $^1/_2$ Stunde) ein kräftiger Gasstrom durch den Apparat geleitet worden war, um möglichst jede Spur atmosphärischer Luft auszuwaschen, wurden etwaige Reste von Sauerstoff noch durch alkalische Pyrogallollösung beseitigt. Bei der Anwendung erhöhter Drucke bediente ich mich des Autoklaven, den auch Hoffmann zum Teil bei seinen Versuchen verwendet hatte, und der von ihm bereits in seiner Abhandlung näher beschrieben wurde, so dafs ich mich, indem ich gleichzeitig eine Abbildung gebe, auf wenige Erklärungen beschränken kann.

Der in dem Gestell *a* ruhende Kessel *b* wird durch einen aufgeschliffenen Deckel *c* nach oben hin abgeschlossen und dieser durch einen kräftigen Stahlbügel *d* mit einer Zentralschraube *e* fest gegen den Kesselrand geprefst, so dafs auch bei hohem Druck im Innern der Abschlufs völlig gasdicht ist. In dem helm-

förmigen Deckel befindet sich ein Manometer, ferner eine durch Stellschrauben verschliefsbare Einlafs- und dieser entgegengesetzt eine Auslafsöffnung für die zur Verwendung kommenden Gasarten. Der Apparat besteht aus geschmiedetem Kupfer und war auf 75 Atm. geeicht. Die lichte Weite des Kessels beträgt 7 cm; ein Gestell von entsprechender Gröfse diente zur Aufnahme der Agarplatten. Während bei der Versuchsanordnung im anaeroben Apparat gewöhnliche Petrischalen mit den Keimen beschickt wurden, konnten jetzt nur ca. 4 cm im Durchmesser haltende Schälchen verwendet werden. Sobald der gefüllte Apparat geschlossen war, wurde bei geöffnetem Auslafs das Gas unter mehratmosphärigem Druck in den Kessel gelassen und so die darin befindliche Luft beseitigt. Alsdann wurde der Auslafs geschlossen und nun unter Beobachtung des Manometers der gewünschte Druck hergestellt. War dieser erreicht, so wurde auch die Verbindung mit der Bombe gedichtet, und der Apparat, wie bereits erwähnt, in den Brutschrank gebracht. Nach einem 20—24 stündigen Aufenthalt daselbst wurde zunächst stets der vorhandene Druck kontrolliert. Hatte er abgenommen, war also der Verschlufs nicht dicht gewesen, was bei hohen Druckgröfsen öfters der Fall war, so wurde der Versuch wiederholt. So wurden, vom normalen atmosphärischen Druck ansteigend, diejenigen Druckhöhen festgestellt, bei denen auch die widerstandsfähigsten Keime nicht mehr zur Entwicklung zu gelangen vermochten.



Meine Versuchsergebnisse sind in Tabelle I und Figur I niedergelegt. In der ersten Tabelle, dem eigentlichen Protokoll, sind die Druckhöhen, die zur Anwendung kamen, einzeln ersichtlich. In ihr sind für jeden Versuch zwei Rubriken in Ansatz gebracht, von denen die erste, z. B. I A., das Verhalten der Bakterien bei dem Kohlensäuredruck von 1 Atmosphäre, die zweite, *L*, den Befund der Agarplatte zeigt, nachdem sie dieser CO_2-Atmosphäre entzogen und mehrere Tage in der atmosphärischen Luft im Brutschrank gewesen war. + bedeutet Wachstum, — Hemmung oder Abtötung, je nachdem nachträglich noch ein Wachstum konstatiert werden konnte oder nicht. In der zweiten Tabelle sind die Druckhöhen graphisch dargestellt und bietet sie eine bessere Übersicht. Die dunkle Strichelung zeigt die Zone an, in der unter der Einwirkung der CO_2 noch Wachstum stattfand, die hellere, in der nach 24stündiger Einwirkung der CO_2 noch in der atmosphärischen Luft ein Auskeimen der Bakterien zu konstatieren war (Hemmungszone). Bei Anwendung höherer Drucke, als in letzterer zum Ausdruck gebracht, wurde keine Entwicklung von Kolonien mehr beobachtet. (Abtötungszone).

Die durch die früheren Versuche erwiesene verschiedene Resistenz einzelner Bakterienarten tritt erst recht deutlich bei der Anwendung erhöhter Drucke zutage. Nach meinen Versuchen mufs ich die untersuchten Bakterien in drei Gruppen einteilen.

Der Repräsentant der ersten ist der Choleravibrio. Abweichend von den Ergebnissen Fränkels konnte ich bei dem von mir untersuchten Stamm nach 24stündiger stationärer Einwirkung der CO_2 stets nur völlige Abtötung feststellen, die Versuche wurden in dieser Richtung mehrfach ausgeführt, hatten aber stets dasselbe Resultat. Für den Cholerakeim mufs daher die CO_2 nach meinen Versuchen als ein absolut bakterizides Agens angesehen werden.

Die zweite Gruppe, die den Milzbrandbazillus und drei Stämme des Bazillus faecalis alcaligenes umfafst, weist die Bakterien auf, die bei Anwesenheit der CO_2 nicht zu wachsen

Tabelle I. CO_2-Ein-

A = Atmosphäre Kohlensäure, L = gewöhnliche atmosphärische Luft

Bakterienart	0 A	L	¼ A	L	½ A	L	1 A	L	1½ A	L	2 A	L	2½ A	L	3 A	L	4 A	L
Typhusbazillus M.	+	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
» » K.	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	[illegible]
» » Sch.	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	[illegible]
Koli bazillus Aue	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	−
» » F.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	−
» » I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	−
» » II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	−
Paratyphus bazillus A.	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−
» » B.	+	−	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−
Cholera vibrio S.	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Bacillus enteritidis Gärtner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	−
Bacillus Dysenterie Flexner	+	−	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−
» » Shiga	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−
Proteus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	−
Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	−
Milzbrandbazillus	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Bacillus faecalis alcaligenes I	−	+	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
» » » II	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
» » » St	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Bacillus pyocyaneus	+	−	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	[illegible]	[illegible]

vermögen, aber durch letztere nicht abgetötet werden, sondern bei besseren Lebensbedingungen wieder auskeimen, auch wenn ein Druck bis zu einer Atmosphäre CO_2 während 24 Stunden auf ihnen ruhte. Wurde dieser Schwellenwert überschritten, so waren auch sie nicht mehr vermehrungsfähig und müssen deshalb wohl als abgetötet angesehen werden.

Die Mehrzahl der untersuchten Keime war imstande, auch während der Einwirkung des Gases sich zu vermehren und auf der Agaroberfläche einen sichtbaren Rasen zu bilden. Die Grenze, bei der ein derartiges Wachstum noch sichtbar war, lag bei den meisten Keimen bei einer Atmosphäre, nur die Koliarten, sowie der Bacillus enteritidis Gärtner und in geringerem Mafse der Staphylococcus pyogenes aureus und der Proteus liefsen sich auch bei höheren Konzentrationen (bis zu 2 Atm.) im Wachstum nicht sonderlich beeinflussen. Entsprechend dieser gröfseren

wirkung auf Bakterien.

Brutschrank 37°), + = Wachstum, — = Hemmung, bzw. Abtötung.

5 A	L	6 A	L	7 A	L	8 A	L	9 A	L	10 A	L	11 A	L	12 A	L	13 A	L	14 A	L	15 A	L	16 A	L	17 A	L	18 A	L	19 A	L	20 A	L
—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—									
—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—								

Wachstumsenergie mufste auch der Druck, welcher eine Abtötung der Keime herbeiführen sollte, erheblich erhöht werden. Von den pathogenen Keimen ist es zunächst der Typhusbazillus mit den ihm verwandten Paratyphusbazillen, welche der Einwirkung der CO_2 erlagen; in geringen Abständen folgen die anderen pathogenen Darmbakterien, der Bacillus enteritidis Gärtner und die beiden Erreger der Dysenterie. Das Kolibakterium erwies sich als die resistenteste Bakterienart. In dem Verhalten der einzelnen Kolistämme zeigt sich eine so erhebliche Differenz, dafs auch auf Grund dieser Beobachtung die Annahme, dafs unter den als Kolibakterien bezeichneten Mikroorganismen eine Gruppe von Bakterien sich birgt, die nur in einzelnen Punkten ihres morphologischen und biologischen Verhaltens verwandtschaftliche Eigenschaften zeigen, ihre Bestätigung finden dürfte. Der höchste Druck, der angewandt werden mufste,

um von den 4 Kolistämmen den resistentesten abzutöten, betrug 15 Atm., während für 2 schon 9 genügten.

Dafs es nicht der Druck in dieser Höhe an und für sich ist, der die schädigende Wirkung auf die Bakterien ausübt, sondern diese in einer spezifischen Eigentümlichkeit der CO_2 zu

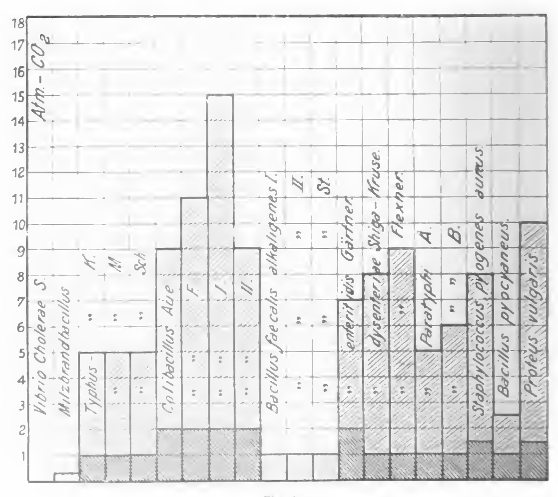


Fig. 1.

Einwirkung der Kohlensäure auf Bakterien.
Atm. CO_2 = Atmosphäre Kohlensäure; dunkle Strichelung = Zone, in der unter Einwirkung der CO_2 Wachstum stattfindet; helle Strichelung = Zone, in der nach 24stündiger Einwirkung der CO_2 noch in der gewöhnlichen Luft ein Wachstum eintritt.

suchen ist, zeigen Versuche, die von Roger[22]) unter Anwendung aufserordentlich hoher Luftdrucke angestellt wurden, ferner ein Vergleich mit meinen Untersuchungen über den Einflufs des Sauerstoffs und des Wasserstoffs, die weiter unten angeführt werden.

Nach Roger vertragen der Staphylococcus aureus, das Bac. coli, Streptococcus erysipelatis und der Bacillus anthracis mit und ohne Sporen ohne weiteres einen 5—10 mal schnell hintereinander eintretenden Wechsel eines Drucks von einer und 250 Atm., ebenso einen 5—6 Minuten anhaltenden Druck von 1000 Atm., durch den auch Wasserbakterien, die im Wasser des Apparates sich befanden, nicht geschädigt wurden. Wurde der Druck innerhalb 10 Minuten allmählich auf 3000 Atm. erhöht und 2 Minuten auf dieser Höhe gehalten, dann plötzlich auf Atmosphärendruck erniedrigt, so zeigten sich Unterschiede im Verhalten der Keime. Der Staphylococcus aureus und das Bacterium coli blieben unbeschädigt, vom Streptococcus erysipelatis starb ein Teil ab, der Rest vermehrte sich langsamer. Nach Suchsland[23]) brachte ein Druck von 200 Atm. während 8 Minuten und von 230 Atm. 1 Minute lang keine Änderung in der Intensität der Phosphoreszenz zweier phosphoreszierender Bakterien hervor.

II. Die Wirkung des Sauerstoffs.

Über die Bedeutung, die dem freien Sauerstoff der Atmosphäre in dem Leben der Mikroorganismen zukommt, ist eine umfangreiche Literatur entstanden, nachdem im Jahre 1861 Pasteur die Entdeckung gemacht hatte, dafs es ein Bakterium, Vibrion butyrique, gäbe, das bei einer normalen Lebensführung den Sauerstoff entbehren könne, ja durch diesen sogar in seiner Existenz geschädigt würde. Nach ihrem Verhalten zum Sauerstoff schied er die Bakterien in aerobe und anaerobe, eine Einteilung, die unter Hinzufügung einer dritten Gruppe, der fakultativ anaeroben, noch jetzt allgemein bräuchlich ist, vom exakt wissenschaftlichen Standpunkte aus sich aber nach den neueren Erfahrungen nicht mehr halten läfst. Sie reicht nicht aus, wenn das Minimum, Optimum und Maximum der Sauerstoffspannung in genügender Weise berücksichtigt wird.

Schon seit längerer Zeit ist durch Versuche dargetan, dafs für einzelne Arten innerhalb der drei genannten grofsen Gruppen

das Optimum der Sauerstoffspannung sehr verschieden ist. In sehr anschaulicher Weise ist dies vornehmlich für die aeroben Bakterien durch die »Bakterienmethode« Engelmanns[24]) und die »Atmungsfiguren« Beijerincks[25]) erwiesen. Beide Methoden zeigen, wie verschiedenartige, eigenbewegliche Bakterien, entsprechend ihrem Sauerstoffbedürfnis in gröfserem oder kleinerem Abstand von einer Sauerstoff spendenden Quelle sich anordnen und so mikro- oder makroskopisch sichtbare scharf getrennte Zonen bildet. In flüssigen Kulturen, in Reagensgläsern, werden die Atmungsfiguren als Bakterienniveaus beobachtet, d. h. als scharf begrenzte, dünne Schichten von Bakterien, die in der klaren Flüssigkeit in einer vom Sauerstoffbedürfnis abhängigen Höhe stehen. Unter wechselnden Spannungen bewegen sich die Keime von einer Zone zur andern, und es fällt oder steigt das Bakterienniveau, indem es sich stets in die Zone der optimalen Sauerstoffspannung einstellt.

Allerdings ist durch völlig einwandfreie Versuche von Nencki, Lachewicz[26]), Beijerinck[27]) und Kabrhel[28]) nachgewiesen worden, dafs es Bakterienarten gibt, die in einer Atmosphäre üppig wachsen können, in denen durch die feinsten Reagentien Sauerstoff nicht mehr nachzuweisen war, in denen auch obligat aerobe Keime nach kurzer Zeit zugrunde gingen. Die von diesen Untersuchern nach längerem Abkochen angenommene absolute Sauerstofffreiheit des Nährbodens scheint jedoch nach den neueren Untersuchungen von Fermi und Bassu[32]) nicht erreichbar zu sein. Aber dieser Sauerstoffabschlufs stellte nach den Untersuchungen Beijerincks[29]) keineswegs das Optimum der Existenzbedingungen dar, bei Gegenwart allerdings sehr minimaler Mengen Sauerstoffs zeigte sich ein erheblich besseres Wachstum. Für eine Reihe von als obligat anaerob bezeichneten Arten ergaben sich nach den Untersuchungen Chudiakows[30]) folgende Sauerstoffmaxima:

Bacterium butyricum 5 mm Luftdruck (0,13 % Sauerstoff) noch lebhaft wachsend,

» » 10 mm Luftdruck, sehr schwach wachsend,

Bacterium butyricum 15 mm Luftdruck und darüber kein Wachstum mehr;

die obere Grenze des Luftdrucks, die noch normale Entwickelung zuliefs, war 5 mm.

Clostridium butyricum . .	10 mm	Luftdruck
Bac. oedematis maligni . .	20 »	»
Bac. tetani	20 »	»
Bac. Chauvei	40 »	»

Wichtig ist auch der Nachweis desselben Untersuchers, dafs bei dem geringen Luftdruck, welcher die Entwickelung der Anaeroben noch zuläfst, der Sauerstoff für dieselben nicht etwa indifferent bleibt, sondern von ihnen auch in ihrem Stoffwechsel hineingerissen und verbraucht wird.

Chudiakow zeigte auch, was bezüglich des Bac. tetani schon bekannt war, dafs es möglich ist, die Anaeroben bei fortgesetzter Züchtung unter langsam steigendem Sauerstoffdruck an den zehnfach höheren Sauerstoffgehalt zu gewöhnen, wie sie ihn normalerweise vertragen. Es gelang ihm auf diesem Wege, seine strengsten Anaeroben, das Bacterium butyricum schliefslich soweit zu bringen, dafs er bei einem Luftdruck von 50 mm (also zehnmal mehr, als es normalerweise vertrug) sich gut entwickelte. Umgekehrt liefs sich diese, an das Leben bei 50 mm Luftdruck gewöhnte Art durch längeren Aufenthalt im Vakuum ihre frühere Empfindlichkeit gegen Sauerstoff wieder anerziehen. Bezüglich der Einwirkung der Sauerstoffatmosphäre auf anaerobe Bakterien ergaben die an Bacterium butyricum ausgeführten Versuche, dafs eine einstündige Einwirkung kaum schädigte, vierstündige und längere Lüftung verminderte, fünfzehnstündige unterdrückte jedes Wachstum. Die reifen, anaerob entstandenen Sporen wurden gleichfalls, der Länge der Exposition entsprechend, geschwächt, nach 265 Tagen war die Schwächung erheblich. Die schädigende Wirkung des Sauerstoffs trat bei höheren Temperaturen schneller in die Erscheinung als bei niederen.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde von Chudiakow das Verhalten des als besonders aerob geltenden Bac. subtilis

gegen niedere Sauerstoffdrucke geprüft. Diese Keimspezies wuchs noch bei 10 mm, aber nicht mehr bei 5 mm Luftdruck. Ähnlich verhielten sich mehrere Schimmelpilzarten und das Clostridium viscosum; letzteres entwickelte sich noch kümmerlich bei 5 mm Luftdruck. Auf Versuche, die über das Verhalten von aeroben Keimen gegenüber der absoluten Sauerstoffentziehung unter Anwendung von Wasserstoff angestellt wurden, werde ich in dem dritten Teil dieser Arbeit näher eingehen.

Nach diesen Beobachtungen müssen die prinzipiellen Gegensätze, die früher zwischen den Aeroben und den Anaeroben angenommen wurden, fallen gelassen werden. Zwischen diesen Gruppen bestehen nur quantitative Unterschiede, deren Grenzen sich durch Anpassung verschieben lassen. Während die obligat anaeroben Bakterien, das Optimum der Lebensbedingung in einem Minimum der Sauerstoffspannung finden, liegt für die Aeroben dieses Optimum durchweg in der höchsten Sauerstoffkonzentration, die die atmosphärische Luft in dem Partiärdruck des Sauerstoffs zu bieten vermag.

Auch den Einflufs höherer Sauerstoffdrucke sucht Chudiakow auf zwei Bakterienarten festzustellen. Der Bac. subtilis wuchs bei seiner Kultur in Glyzerinpepton noch bei 3 Atmosphären, nicht aber bei 4, das fakultativ anaerobe Chlostridium viscosum entwickelte sich in Peptonlösung ohne Glyzerinzusatz noch bei 2,5 Atmosphären, während in der Glyzerinpeptonlösung wohl noch bei 1 Atmosphäre, nicht mehr bei 2, Wachstum zu konstatieren war. Durch 4 Atmosphären und 14 tägige Einwirkung wurde letzteres abgetötet, der Bac. subtilis dagegen blieb unter diesen Umständen noch lebensfähig. Chudiakow nimmt daher den Schwellenwert der Sauerstoffspannung für die fakultativ anaeroben Bakterien niedriger als für die obligat anaeroben, eine Verallgemeinerung, die nach meinen Untersuchungen nicht zulässig ist.

Meine Versuche über den Einflufs des Sauerstoffs bei verschiedenen Druckhöhen wurden genau in derselben Weise ausgeführt, wie sie bereits in dem ersten Teil dieser Abhandlung

bezüglich der CO_2-Versuche geschildert wurden. Mit Ausnahme eines Typhusstammes (Typhus 151) waren es dieselben Bakterienspezies, die der Prüfung unterworfen wurden. Nach Beschickung der Agarplatten mit 1—2 Ösen 24stündiger Bouillonkulturen wurden sie bei den Versuchen unter atmosphärischem Druck im Anaerobenapparat, bei höheren im Autoklaven dem Sauerstoff ausgesetzt. Nach 24stündiger Einwirkung des Gases bei 37° wurden die Agarplatten, falls bis dahin ein kräftiges Wachstum sich nicht gezeigt hatte, in der atmosphärischen Luft im Brutschrank aufbewahrt bis entweder ein Rasen sichtbar wurde oder bei dem Ausbleiben dieses die Abtötung als sicher angenommen weden konnte. Das Gas wurde einer Bombe entnommen, die von einer hiesigen Firma den »Sauerstoffwerken« geliefert war.

Tabelle II zeigt das Protokoll, Figur 2 eine graphische Darstellung der Druckhöhen.

Ein Blick auf die Figur 2 zeigt uns, dafs die Wirkung des Sauerstoffes durchweg nicht der der Kohlensäure gleichkommt. Es gibt unter den von mir untersuchten Bakterienarten keine, die nicht noch in reiner Sauerstoffatmosphäre zu wachsen vermögen, alle sind sie imstande, auch eine höhere Konzentration dieses Gases zu überwinden. Auffällig ist, dafs gerade die sauerstoffbedürftigsten Spezies, der Choleravibrio, der Milzbrandbazillus und die Bac. faecalis alcaligenes-Stämme nur in verhältnismäfsig engen Grenzen diese erhöhten Sauerstoffkonzentrationen ertragen können, eine Beobachtung, die mit der von Chudiakow gemachten in Widerspruch steht. Mit nur wenigen Ausnahmen liegt die Grenze, innerhalb der noch Wachstum bei direkter Sauerstoffeinwirkung beobachtet werden konnte, höher als bei der Kohlensäure, doch sind diese Unterschiede nicht so erheblich, dafs sie die gewaltigen Differenzen, die hinsichtlich der Hemmung festgestellt werden konnten, erklären lassen. Während in der Kohlensäureatmosphäre von 15 Atmosphären Druck auch die resistentesten der untersuchten Keimarten, die Kolibakterien, abgetötet wurden, konnte ein Sauerstoffdruck von 75 Atmosphären, der für den Apparat höchst zulässige Druck, eine gröfsere Anzahl von Keimen nicht derart schädigen, dafs sie nicht noch nachträglich in der

Tabelle II. Einwirkung

A = Atmosphäre Sauerstoff, L = gewöhnliche atmosphärische

Bakterienart	0 A	L	½ A	L	¾ A	L	1 A	L	1½ A	L	2 A	L	2½ A	L	3 A	L	4 A	L	5 A	L	6 A	L	7 A	L
Vibrio Cholera S.	−	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Milzbrandbazillus	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−		−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
Typhusbazillus R.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−
» M.	+	+	+	·	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−
» 151	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
Coli bac. Aue	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
» F.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−
» I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
» II	·	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
Bac. faec. alcalis I	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
» » » II.	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
» » » St.	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Bac. enteritid. Gärtner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
Bac. Dysent. Shiga	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
» » Flexner	+	+	+	−	+	+	+	·	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
Bac. Paratyphus A..	+	+	+	·	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
» » B..	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	
Staphylococcus pyogenes aureus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+
Bac. pyocyan.	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
Proteus	+	+	+	+	+	+	+	+	·	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+

atmosphärischen Luft sich vermehrten. Eigentümlicherweise steht die Zone, in der unter der Sauerstoffwirkung noch Wachstum stattfindet, in keinem Verhältnis zu der Hemmungszone und zwar tritt dies besonders deutlich bei den bereits genannten sauerstoffbedürftigen Keimen, dem Cholera vibrio, Milzbrandbazillus und Bac. faecalis alcaligenes in die Erscheinung. Letzterer wächst noch in einem ½ atmosphärigen Sauerstoffüberdruck, wird aber schon in einem 1½ bzw. 2 atmosphärigen abgetötet. Der Cholera-vibrio und der Milzbrandbazillus zeigen noch bei einer bzw. ¾ Atm. Wachstum, sterben aber schon bei einem minimal höheren Druck von 1½ bzw. 1 Atm. ab. Abnorme Verhältnisse zeigt der eine Dysenteriestamm, der in denselben Grenzen wie der Bac. faecalis alcaligenes noch wächst, aber erst durch einen

des Sauerstoffs auf Bakterien.

Luft, + = Wachstum, — = Hemmung bzw. Abtötung.

8 A	L	9 A	L	10 A	L	15 A	L	20 A	L	25 A	L	30 A	L	35 A	L	40 A	L	45 A	L	50 A	L	55 A	L	60 A	L	65 A	L	70 A	L	75 A	L
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—
—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+

Druck von 30 Atm. abgetötet wird. Die gröfste Wachstumsenergie in der Sauerstoffatmosphäre weist der Staphylococcus pyogenes aureus auf, seine Abtötung erfolgt aber früher als bei den Kolibakterien, dem Bac. paratyphi B und dem Proteus. Die Typhusstämme sowie der Bac. dysenteriae Flexner nehmen eine Mittelstellung ein.

Bezüglich des Sauerstoffs ergeben sich demnach dieselben Verhältnisse, wie für die Nährböden überhaupt, worauf Rubner[31]) in seiner Abhandlung »Die Beziehungen zwischen Bakterienwachstum und Konzentration der Nährung (Stickstoff- und Schwefelumsatz) besonders hingewiesen hat. Wie es bei den Nährböden Grenzen der Konzentration gibt — nach Rubner lag z. B. für eine Proteusart die Grenze der Hemmung bei 23 %

Fleischextrakt (= 30% frische Substanz), so ist auch bei einer gewissen höheren Konzentration des Sauerstoffs ein Wachstum

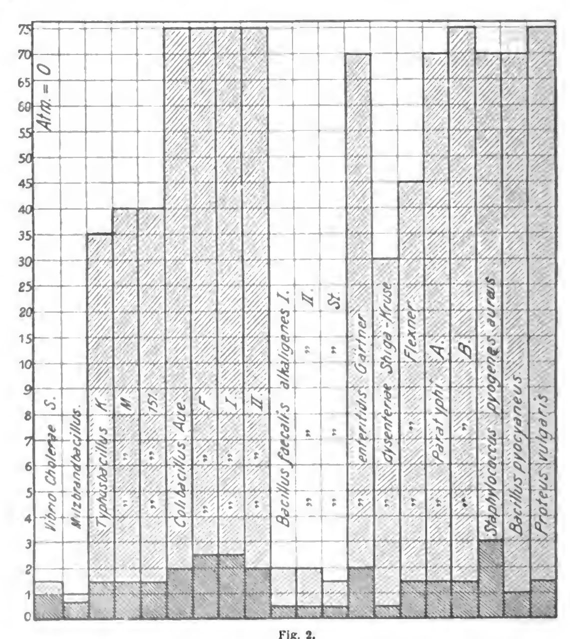


Fig. 2.

Einwirkung des Sauerstoffs auf Bakterien.

Atm. 0 = Atmosphäre Sauerstoff; dunkle Strichelung = Zone, in der unter Einwirkung des Sauerstoffs noch Wachstum stattfindet; helle Strichelung = Zone, in der nach 24stündiger Einwirkung des Sauerstoffs in gewöhnlicher Luft noch ein Wachstum eintritt.

nicht mehr möglich, eine Grenze nach unten gibt es aber überhaupt wohl weder für die Nährböden noch den Sauerstoff.

III. Wirkung des Wasserstoffs.

Bezüglich der Wirkung des Wasserstoffs auf die Lebenstätigkeit der Bakterien bleibt nur noch wenig zu berichten. Seine Unschädlichkeit, die bereits seit seiner Einführung in die Bakteriologie bekannt ist, wurde auch durch meine Versuche bei Anwendung erheblicher Druckhöhen bestätigt. Allerdings kann diese Indifferenz nicht für alle Bakterien in gleichem Mafse in Anspruch genommen werden. Ungünstig mufs selbstverständlicherweise der Wasserstoff auf die Bakterien einwirken, wenn er ihnen andere Gasarten, die vorteilhafter für ihre Lebenstätigkeit sind, entzieht. So sollten obligat aerobe Keime in einer reinen Wasserstoffatmosphäre nicht wachsen können, höhere Konzentrationen müssen diese Keime, entsprechend ihrem Sauerstoffbedürfnis, beeinflussen und so indirekt Schädigungen bedingen. Eine Beteiligung dieses Gases an dem Lebensprozefs selbst ist bisher nicht nachgewiesen, ausgenommen, wenn es in statu nascendi durch Zerlegung anderer Verbindungen indirekt günstigere Nährmedien schafft. Die Anordnung bei meinen Versuchen, bei denen ich eine gröfsere Zahl der verschiedensten Keimarten dem Wasserstoff aussetzte, war dieselbe, wie sie bereits im ersten Teil des Aufsatzes beschrieben wurde. Hervorheben möchte ich noch, dafs der Nähragar erst zur Platte ausgegossen wurde, nachdem er einige Zeit ($^1/_4$—$^1/_2$ Stunde) im kochenden Wasser gestanden hatte, um so möglichst jede Spur Sauerstoff aus ihm zu entfernen. Sofort nach dem Erkalten wurden die Platten mit den 24stündigen Bouillonkulturen besät und in den Autoklaven gebracht. Der zur Pression verwendete Wasserstoff entstammte Bomben und war frei von Sauerstoff, wie die Untersuchung ergab. Wie in den früheren Versuchen, so wurde auch jetzt der Apparat peinlichst durch einen kräftigen, mehrere Atmosphären starken Wasserstoffstrom längere Zeit ausgewaschen, so

dafs mit Sicherheit angenommen werden konnte, dafs der Sauerstoff der Luft völlig aus ihm entfernt sei. Diese Annahme fand ihre Bestätigung, als zur Kontrolle nach 24 Stunden ein Teil des Gases auf dem Apparat aufgefangen und auf Sauerstoff untersucht wurde. Die alkalische Pyrogallollösung zeigte keine bräunliche Verfärbung, demnach war in der die Agarplatten umgebenden Atmosphäre kein Sauerstoff mehr vorhanden. Es käme also nur noch der Sauerstoff in Betracht, der nach Angabe von Fermi und Bassu[32]) selbst durch Abkochen niemals aus den Nährböden, besonders dem Agar, entfernt werden kann, so dafs also in praxi niemals mit einer absoluten Anaerobiose zu rechnen wäre; sämtliche frühere Beobachtungen über das Leben von Mikroorganismen in einer sauerstofffreien Atmosphäre müssen, fallls diese Angaben sich bestätigen sollten, damit hinfällig werden.

Zusammenstellung 3.

Einwirkung des Wasserstoffs auf Bakterien.

Lfd. Nr.	Bakterienart	Anzahl der Atmosphär.	Dauer der Einwirkung	Temperatur	Wirkung
			Std		
1	Bact. Coli F. . . .	75	24	37°	kräftig. Wachstum
2	Bact. Coli I	»	»	»	do.
3	Bac. Typhi K. . . .	»	»	»	do.
4	» » D. . . .	»	»	»	do.
5	» Paratyphi A. .	»	»	»	do.
6	» » B.. .	»	»	»	do.
7	» Dysenteriae Flexner.	»	»	»	do.
8	» Dysenter. Shiga-Kruse	»	»	»	do.
9	» Dysent. Shiga II	»	»	»	do.
10	» Enteritidis Gärtner.	»	»	»	do.

Fortsetzung der Zusammenstellung 3.

Lfd. Nr.	Bakterienart	Anzahl der Atmosphär.	Dauer der Einwirkung	Temperatur	Wirkung	
			Std.			
11	Bac. faecalis alcalig..	75	24	37°	kräftig. Wachstum	
12	Proteus vulgaris . .	»	»	»	do.	
13	Cholera-Vibrio S. . .	»	»	»	kräftig. Wachstum u. Indolbildung	
14	» » V. . .	»	»	»	do.	
15	El Tor II	»	»	»	kräftig. Wachstum u. starker Indolgeruch	
16	» » III	»	»	»	do.	
17	» » IV	»	»	»	do.	
18	» » V.	»	»	»	do.	
19	» » VI.	»	»	»	schwach. Wachstum	
20	Bac. Pyocyaneus . .	»	»	»	kräftig. Wachstum u. Farbstoffbildung	
21	Milzbrandbazillus . .	»	»	»	gutes Wachstum	
22	» sporen an Seidenfäden	»	»	»	do.	
23	Staphylococcus pyogenes aureus	»	»	»	do.	
24	Bac. Dyphtheriae . .	»	»	»	kümmerlich	auch auf Ascitesagar konnte eine deutliche Hemmung festgestellt werden, nach 48 Stdn. kräftigere Entwicklung
25	Bac. Influencae . .	60	»	»	gutes Wachstum auf Taubenblutagar	
26	Meningococcus . .	»	»	»	kräftig. Wachstum auf Ascitesagar	
27	Streptococcus pyog. .	»	»	»	gut. Wachstum, sehr kräft. a. Ascitesagar	
28	Bacillus fluorescens liquefac.	75	»	26°	kräftig. Wachstum und Fluorescens	
29	Bac. fluorescens non liquefac.	»	»	»	kräftig. Wachstum und Fluorescenz	Fluoreszenz trat auch bei den in atmosphär. Luft gehaltenen Kulturen erst am zweiten oder dritten Tage ein.
30	Bac. subtilis	»	»	»	do.	
31	» lact. aerogenes .	»	»	»	do.	
32	» Acidi lactici . .	»	»	»	do.	
33	» Prodigiosus . .	»	»	»	kräftig. Wachstum m. Farbstoffbildung	
34	» Ruber Kiel . .	»	»	»	do.	
35	» Cyanogenes . .	»	»	»	kräftig. Wachstum	wie bei 29.
36	» Pyocyaneus . .	»	»	»	kräftig. Wachstum m. Farbstoffbildung	
37	Spirillum volutans .	»	»	»	schwach. Wachstum	

Alle untersuchten Bakterien vermochten demnach in einer sauerstofffreien Atmosphäre sich zu vermehren. Durchweg war jedoch das Wachstum unter dem Wasserstoff nicht so intensiv als bei gleichen Kulturen, die unter aeroben Verhältnissen gehalten wurden, der gebildete Rasen war mehr flächen- und schleierförmig und von geringerer Dicke. Obligataerobe Keime nach der althergebrachten Anschauung waren somit nicht vorhanden, es mufste allen der Sauerstoff genügen, der nach den Untersuchungen von Fermi und Bassu im Nährboden zurückgeblieben war. Ob dieser aber als einzige Quelle für ihre Lebensenergie anzusehen ist, möge dahingestellt sein; vielleicht hält man die Annahme für zulässig, dafs die lebenskräftigen Individuen bei günstigen Aufsenbedingungen in ihrem Innern eine gewisse kleinste Sauerstoffreserve aufspeichern können, die sie in der Karenzzeit zu verwerten imstande sind, ähnlich wie Pfeffer[33]) dies bei den farbstoffbildenden Bakterien feststellen konnte. Ferner mufs daran gedacht werden, dafs eben fermentative Prozesse auf dem Nährboden eintreten können.

Unter den angeführten Keimarten finden sich aber auch solche, die nach unseren bisherigen Anschauungen als absolut aerob galten, so z. B. der Influenza- und der Diphtheriebazillus. Letzterer zeigte zwar deutlich eine Hemmung im Wachstum gegenüber den in der atmosphärischen Luft gehaltenen Kulturen, ersterer dürfte in dem sauerstoffhaltigen Blut hinreichend günstige Lebensbedingungen gefunden haben; seine in der Wasserstoffatmosphäre gebildeten Kolonien differierten nur um ein geringes von den aerob gewachsenen. Auch andere Lebensäufserungen, so die Farbstoffbildung, blieben, wie die Zusammenstellung zeigt, nicht aus, wenngleich sie auch weniger kräftig waren; der Choleravibrio und vier von fünf El Tor-Stämmen produzierten, wie am Geruch festgestellt werden konnte, Indol.

Die von mir beobachtete und nach Lage der Versuchsanordnung nur schätzungsweise angegebene Beeinträchtigung im Wachstum, bedingt durch den Mangel an Sauerstoff, findet in den Untersuchungen Willimskys[34]) eine Stütze, die dieser im hiesigen Institut ausführte. Der Choleravibrio, der Bac. fae-

calis alcaligenes und der Bac. fluorescenz non liquefaciens wuchsen in ungespanntem Wasserstoff zwar zu Kolonien aus, deren Gröſse jedoch gegenüber den aerob gehaltenen Kulturplatten zurückblieb. Quantitative Bestimmungen ergaben, daſs der Bac. fluorescenz non liquefaciens nach achttägiger mittelst Wasserstoff hergestellter Anaerobiose in der Wachstumsintensität um $^1/_3$ gelitten hatte. Aerob gewachsene Rasen der obengenannten drei Keimarten, die nachher 24 Stunden in reiner Wasserstoffatmosphäre gehalten wurden, wiesen bei dem Choleravibrio und Bac. alcaligenes nur noch 65% und dem Fluorescenz noch 57% lebens- und vermehrungskräftige Individuen auf.

Der Druck an und für sich übte in den von mir angewandten Konzentrationen anscheinend keinerlei Wirkung auf die Bakterien aus, wie bereits auch im ersten Teil des Aufsatzes des näheren ausgeführt wurde.

Literatur.

1. Hoffmann, Arch. f. Hygiene, Bd. LVII.
2. d'Arsonval, Comptes rendus de l'Académie des sciences de Paris. Tome CXII, 1891.
3. Sabrazès und Bazin, Comptes rendus de la soc. de biol. 1893.
4. Schaffer und E. v. Freudenreich, Annales de Micrographie, IV.
5. d'Arsonval und Charrin, Comptes rendus de la soc. de biol., 1893.
6. Sohnke, Zeitschr. f. Mineralwasserfabrikation, 1886.
7. Pfuhl, Deutsche militärärztliche Wochenschrift, 1886.
8. Hochstetter, Arb. aus dem Kaiserl. Ges.-Amt, 1887.
9. Leone, Arch. f. Hygiene, 1886.
10. Scola und Alessi, Estratto d. Bull. d. Reg. Accad. med. Roma, 1889—1890.
11. Hellwig, Die Typhusepidemie in Mainz im Sommer 1884. Mainz, 1885.
12. Dräer, Zentralblatt f. allgemeine Gesundheitspflege, 14.
13. C. Fränkel, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. V.
14. Pasteur und Joubert, Étude sur la maladie charbonneuse. Comptes rendus, 1877.
15. Szpilmann, Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. phys. Chemie, 1880.
16. Buchner, Archiv f. Hygiene, 1885.
17. Liborius, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 1.
18. Schottelius, Biolog. Untersuchungen über den M. prodigiosus.
19. Frankland, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. VI.

20. Sirotinin, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IV.
21. Bischoff, Veröffentlichungen auf dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens, Heft 23.
22. Roger, Compt. rend. d. séanc. d. l'Acad. des scienc. de Paris, 1894.
23. Suchsland, Physikalische Studien über Leuchtbakterien. Halle, 1898.
24. Engelmann, Botan. Zeitung 1881, 1882, 1888.
25. Beijerinck, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 14, 1893.
26. Nencki und Lachowicz, Pflüger, Arch. f. Physiologie, Bd. 33, 1884.
27. Beijerinck, ref. Kochs Jahresbericht d. Gärungsorganismen, 1893.
28. Kabrehl, Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 25, 1899.
29. Beijerinck, ref. Zentralblatt f. Bakt., Bd. 25, 1899.
30. Chudiakow (russisch) ref. Zentralblatt f. Bakt., II. Abtlg., Bd. 4, 1898.
31. Rubner, Arch. f. Hygiene, Bd. 57.
32. Fermi und Bassu, Zentralblatt f. Bakt., Bd. 35.
33. Pfeffer, Ber. d. Kgl. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch., ref. Baumgartens Jahresbericht, 1896.
34. Willimsky, Arch. f. Hygiene, Bd. LIV.

Über das Eindringen von Bakterien in das Hühnerei durch die Eischale.

Von

Dr. med. **R. Lange**-Berlin.

(Aus den Hygienischen Instituten der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Auf Anregung von Herrn Geheimrat Rubner habe ich durch eine gröfsere Reihe von Versuchen der Frage näher zu treten versucht, ob lebende Bakterien die Fähigkeit besitzen, die unverletzte Eiwand der Hühnereier zu durchwandern und bis in das Eiinnere vorzudringen, sich hier zu vermehren und durch ihre Lebenstätigkeit eine Gefahr für den Menschen zu bilden. Falls diese Versuche im bejahenden Sinne ausfielen, sollten sich einige andere anschliefsen, wie lange und bis zu welchem Hitzegrade ein derartig infiziertes Ei bis zur Beseitigung der Infektionsgefahr erwärmt werden mufs.

Die grofsen Mifsstände im heutigen Eierhandel setze ich als bekannt voraus und verweise auf die neuesten Arbeiten von K. Borchmann(1) und Sachs-Müke(2). Ersterer hat eine sehr genaue Übersicht der Gesamtliteratur gebracht.

Bevor ich auf meine Resultate zu sprechen komme, möchte ich einige Bemerkungen über die Versuchstechnik vorausschicken. Die einzelnen Teile des Eies, wie Aufsenschale, Eihaut, Eiweifs

und Eigelb habe ich mit gesonderten und frisch ausgeglühten Instrumenten entnommen. Die Eier selbst sind von der beginnenden Desinfektion bis zur vollendeten Präparation nur mit ausgeglühter Zange auf steriler Petrischale gehalten worden.

Die untersuchten Eier sind 24 Stunden alte (in den Tabellen als frisches Stallei bezeichnet) sowie als »Trinkeier« abgestempelte, ferner Kalkeier und schliefslich sehr alte Fleckeier mit wandständigem Dotter und grofser Luftblase. Desinfiziert habe ich sie in folgender Weise. Zunächst habe ich jedes Ei unter dem laufenden Strahl der Wasserleitung mit Bürste und Seife 5 Minuten lang gründlich vom Schmutz gesäubert. Dann mit einem Wattebausch in einer Glasschale mit genügender Menge Äther, in einer zweiten mit absolutem Alkohol tüchtig abgerieben, darauf eine Stunde in einer Sublimatlösung 1 : 1000 ohne Zusatz von Salzsäure liegen lassen und schliefslich mit ca. 2 l sterilem destillierten Wasser abgespült. Nunmehr legte ich sie mittels ausgeglühter Zange in die betreffende Bouillon.

Die Präparation des Eies in seinem natürlichen Zustande macht besonders grofse Schwierigkeiten. Um die einzelnen Bestandteile des Eies getrennt von einander zu erhalten, habe ich in den ersten Versuchen entweder mit der Öse oder Pipette Proben entnommen, oder das Ei nach der bekannten Weise zu klären gesucht, wie es in der Küche üblich ist, nachdem ich die Schale mit der Scheere durchgeschnitten hatte. Falls es nicht glückte, habe ich diese Eier aus den Tabellen ausgeschieden. Einen grofsen Nutzen brachte mir der Rat von Herrn Geheimrat Rubner, die Eier ohne Schaden für die Bakterien gefrieren zu lassen. Von da ab habe ich nur so gearbeitet und dabei viel Zeit und Material gespart. In der Mehrzahl der Fälle waren die Eier in einer Stunde in einer Kältemischung von — 15 bis — 19° C fest erstarrt und die Präparation spielend leicht. Nach 45 Minuten war das Eigelb noch ganz flüssig, oft auch das Eiweifs, zumal bei älteren bis sog. faulen Eiern. Vielleicht in kaum der Hälfte der Fälle sprang während des Gefrierens die Schale der Eier unter einem lauten Knall nach ca. 40—50 Mi-

nuten, um so lauter, je älter die Eier waren. Die Risse betrafen nur die Schale und lagen auf einer Seite des Eies. Der Eiinhalt war dann schon fest gefroren.

Die so gefrorenen Eier habe ich mit sterilem destillierten Wasser reichlich abgespült und dann mit sterilem Messer der Länge nach bis etwa auf die Hälfte eingeschnitten. Zuvor habe ich mit einer Pinzette die Eischale in einer Rinne geöffnet, um so besser einen Stützpunkt für das Messer beim Schneiden zu haben. Dicht neben die Klinge setzte ich darauf eine starke Pinzette und konnte so mit Hilfe dieser zwei Instrumente das Ei in seiner zweiten Hälfte aufbrechen, ohne die Eimassen zu berühren. Das Ei bricht dabei genau und glatt in zwei Teile. Von diesen unberührten Flächen entnahm ich dann mit einer Lanzette die getrennten Eiproben dort, wo Eiweifs von Eischale und Eihaut einerseits, anderseits vom Eigelb getrennt ist. Das Eiweifs gefriert in leicht voneinander zu trennenden Lamellen, während das Eigelb eine feste Masse darstellt und so fest wird, dafs eine starke Platinnadel nicht einzudringen vermag. Diejenigen Eier, die ich nicht gekocht habe, wurden nach Herausnahme aus der Bouillon nochmals desinfiziert und zwar anfangs nur einige Minuten, später bis zwei Stunden lang, um zu prüfen, ob die an oder in der Schale haftenden Bakterien durch eine Sublimatlösung 1 : 1000 abgetötet werden. Die Eier wurden vorher ebenfalls mit Äther und Alkohol energisch abgewischt und das überschüssige Sublimat mit sterilem destillierten Wasser reichlich abgespült. Dagegen wurden die gekochten Eier entweder direkt in der geimpften Bouillon im Wasserbade erhitzt oder wie in der Küche in das Wasser gelegt, nachdem letzteres auf den beabsichtigten Wärmegrad vorgewärmt war.

Schliefslich bemerke ich noch, dafs ich zum Impfen der Bouillon stets 18—20 Stunden alte Agarkulturen von Laboratoriumsstämmen benutzt habe.

In Tabelle I sind diejenigen Versuche wiedergegeben, welche ich mit Bact. Coli anstellte.

Tabelle I. Bact. Coli.

No.	Alter des Eies	Wieviel Tage in der Bouillon bei 37° C	Hängender Tropfen	Desinfektion	Öffnung des Eies	Einlegen von Eischale in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eiweifs in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eigelb in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Hängender Tropfen der Kolonien	Einwanderung der Kolikeime nach wieviel Tagen bis
1.	frisch. Stall-ei	1	unbewegl. u. bewegl. Stäbch.	—	im natürlichen Zustande	Gelatineplatt. Drygalskiplatt.	24 h +	Gelatineplatt. Drygalskiplatt.	24 h — 	Gelatineplatt. Drygalskiplatt.	24 h — —	unbewegl. u. bewegl. Stäbch.	nach 1 Tag bis in das Eiweifs.
2.	do.	5	do.	[illegible] Alkohol [illegible] Sublim. 1‰ Aq. dest.	„	Gelatine-platten Drygalski-platten	48 h + 24 h —	Gelatine-platten Drygalski platten	48 h + 24 h —	Gelatine-platten Drygalski-platten	48 h — 24 h —	do.	nach 5 Tagen bis in das Eigelb.
3.	do.	7	do.	1½ h Sublim. 1‰	„	Gelatine-platten Endoplatten	—	Gelatine-platten Endoplatten	+	mifslungen		do.	nach 7 Tagen sicher bis in das Eiweifs. Eigelb sehr flüssig, von kollartigem Geruch.
4.	altes Markt-ei	10	do.	3 h Sublim. 1‰	Ei geklärt. Proben mit Pipette entnommen	Endoplatten	+	Endoplatten	+	Endoplatten	+	do.	nach 10 Tag. bis in das Eigelb.
5.	frisch. Stall-ei	1	do.	1 h Sublim. 1‰	1 h in Kältemischung von — 19° C	Endoplatten	+	Endoplatten	+	Endoplatten	—	do.	nach 1 Tag bis in das Eiweifs.
6.	do.	3	do.	—	3′ gekocht bei 100° C	Endoplatten	+	Endoplatten	—	Endoplatten	—	do.	n. 3′ Kochen Kolikeime in der Eischale
7.	do.	4	do.	—	6′ gekocht bei 100° C	Endoplatten	—	Endoplatten	—	Endoplatten	—	—	n. 6′ Kochen keine Kolikeime mehr im Ei.

Die verschiedenen Eiproben tat ich in Bouillonröhrchen und liefs diese 24—48 Stunden im Brutschrank von 37° C stehen. Diese Bouillon strich ich dann auf Platten aus und hielt letztere 1—2 Tage bei 22° C resp. 37° C. Auf allen, in der Tabelle mit + bezeichneten Platten waren typische Kolonien ausgewachsen, von denen ich je ein Agarstrichröhrchen zu den kulturellen Versuchen anlegte. Die Zuckerbouillonkölbchen waren bei 46° C im Brutschrank nach der Methode von Eijkman vergoren. Das übereinstimmende, positive Ergebnis berechtigte mich dazu, die gefundenen Keime als Bact. Coli anzusehen.

Aus dem Versuch Nr. 7 geht hervor, dafs eine Hitze von 100° C erst nach 6 Minuten imstande ist, alle Kolikeime im Ei zu vernichten, während nach 3 Minuten noch solche an der Eischale haften. Anzunehmen ist wohl, dafs im Fall Nr. 6 die Bakterien noch nicht tiefer eingedrungen sind, da sie dann auch im Innern anzutreffen sein müfsten, wenn sie nach 3 Minuten langem Kochen aus der Schale nachweisbar sind. Überdies kann ich nicht angeben, ob sie an der Aufsen- oder Innenfläche der Schale haften oder in dieser selbst sich befinden.

Ich bemerke noch, dafs die Zeit von 24 Stunden oft nicht ausreicht, die mit den Eiproben in die Bouillon gebrachten Keime zur Vermehrung und Auffindung zu bringen (cf. 2).

Aus der letzten Rubrik der Tabelle ergibt sich, dafs Bact. Coli bis in das Eigelb vorzudringen vermag, und zwar nach 24 Stunden bis in das Eiweifs und nach 5 und mehr Tagen auch bis in das Eigelb.

Durch die Untersuchungen von Piorkowski(3) im Jahre 1895 ist die Einwanderung der Typhusbazillen in das Hühnerei festgelegt. Ich habe darum auch nur einige Versuche gemacht, welche die Richtigkeit bestätigen, hauptsächlich aber den Zweck verfolgen, zu prüfen, in welcher Zeit die Bazillen im Ei durch Kochhitze vernichtet werden.

Zur Impfung der Bouillon benutzte ich einen Laboratoriumsstamm K. Zu dessen Identifizierung diente mir ein Serum (Trockenserum Merck), das in einer Verdünnung 1 : 12000 sicher

Tabelle IIa. Typhus.

Lfd. Nr.	Alter des Eies	Wieviel Tage in der Bouillon bei 37° C	Hängender Tropfen	Desinfektion	Eröffnung des Eies	Einlegen von Eischale in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eiweifs in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eigelb in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einwanderung von Typhusbazillen nach wieviel Tagen bis in:
8.	frisch. Stallei	2	sehr bewegl. Stäbchen	Äther. Alkohol 5 Sublim. Aq. dest.	in natürlichem Zustande	Gelatineplatten Drygalskiplatt.	+ +	Gelatineplatten Drygalskiplatt	+ +	Gelatineplatten Drygalskiplatt.	— —	nach 2 Tagen bis in das Eiweifs.
9.	do.	5	do.	10′ Sublimat. etc.	do	do. do.	+ +	do. do.	+ +	do. do.	+ +	nach 5 Tagen bis in das Eigelb.
10.	do.	7	do.	1 h Sublim.	do.	do do	21. 18 + +	do. do.	24 18 + +	mifslungen	—	nach 7 Tagen bis in das Eiweifs.
11.	Fleckei	10	do.	2 h Sublim.	do.	do do.	+ +	mifslungen	—	Gelatineplatten Drygalskiplatt.	+ +	nach 10 Tagen bis in das Eigelb.
12.	frisch. Stallei	1	do.	1 h Sublim.	do	do. do.	— —	do. do.	— —	do. do.	— —	nach 1 Tag keine Typhusbazillen nachweisbar.
13.	do.	3	do.	—	3′ gekocht	do. do.	— —	do. do.	+ +	do. do.	+ +	Typhusbazillen noch nachweisbar im Eiweifs u. Eigelb.
14	do.	4	do.	—	6′ gekocht	do. do.	— —	do. do	—	do. do.	+ +	Typhusbazillen noch nachweisbar im Eigelb.

agglutinierte. Dasselbe Serum agglutinierte bei der orientierenden Agglutination die in der Tabelle mit + bezeichneten, abgestochenen Kolonien in einer Verdünnung 1 : 300 komplett in wenigen Sekunden.

Die mit den einzelnen Eiproben beschickten Bouillonröhrchen hielt ich 24 Stunden im Brutschrank von 37° C und strich dann 1—2 Osen auf Gelatine- und Drygalskiplatten aus. Nach 24 resp. 48 Stunden waren im Brutschrank bei 22° C und 37° C typische Kolonien ausgewachsen.

Die Versuche zeigen, dafs **Typhusbazillen nach 24 Stunden** die **Eiwand** noch **nicht** passiert haben, nach **2 Tagen** bis in das **Eiweifs** und nach **3 Tagen** bereits bis in das **Eigelb** vorgedrungen sind.

Die Kochversuche ergaben folgendes: Nach 3 Minuten langem Kochen bei 100° C fand ich Typhusbazillen im Eiweifs und Eigelb, aber nicht in der Schale (Nr. 13), während die Bact. Coli hier noch zu finden sind, und nach 6 Minuten langem Kochen noch im Eigelb. Die Typhusbazillen werden schneller durch die Hitze vernichtet als Bact. Coli. Ein mit Typhusbazillen in-

Tabelle IIb. Paratyphus B.

Lfd. Nr.	Alter des Eies	Wieviel Tage in der Bouillon bei 37° C	Hängender Tropfen	Desinfektion	Eröffnung des Eies	Einlegen von Eischale in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eiweifs in Bouillon Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eigelb in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einwanderung von Paratyphusbaz. nach wieviel Tagen bis in
15.	Trinkei	1	sehr bew. Stäbchen	Äth. Alkoh. 1 h Sublim. Aq.dest.	$1^1/_2$ h in Kältemischg. v. —19° C	Agarplatten	+	Agarplatten	+	Agarplatten	+	nach 1 Tag bis in das Eigelb.
16.	Fleckei	3	do.	do.	1 h — 17° C	do.	+	do.	+	do.	+	nach 3 Tgn. bis in das Eigelb.
17.	do.	3	do.	do.	1 h — 14° C	do.	+	do.	+	do.	—	nach 3 Tgn. bis in das Eiweifs.
18.	do.	3	do.	—	8′ gekocht	do.	—	do.	—	do.	—	Keine Paratyphusbaz. nachweisb.
19.	do.	3	do.	—	4′ gekocht	do	—	do.	—	do	+	noch nachweisbar im Eigelb.

fiziertes Ei mufs mindestens 8 Minuten gekocht werden, um alle Keime zu töten.

Die Versuche habe ich in derselben Weise ausgeführt und benutzte eine 18 Stunden alte Agarkultur (Schottmüller). Zur Identifizierung bediente ich mich des Paratyphus B — Serumpapiers (Merck), das in einer Verdünnung 1 : 9800 den Stamm noch deutlich agglutinierte.

Schon nach 24 Stunden ist es mir gelungen, drei typische Kolonien auf einer Agarplatte aus dem Eigelb nachzuweisen. Sicher ist das Vordringen der Bazillen bis in das Eigelb nach 3 Tagen.

Bei den Kochversuchen wählte ich dieses Mal die Dauer von 4 und 8 Minuten. In Nr. 19 war die Mitte des Eigelbs nach 4 Minuten noch flüssig und enthielt lebende Paratyphus-B-Bazillen. In Nr. 18 war das Ei nach 8 Minuten langem Kochen vollständig hart und frei von Paratyphus-B-Bazillen.

Bei den Versuchen mit Bac. enteritidis Gärtner bediente ich mich drei verschiedener Stämme: alter Stamm, Stamm Drygalski und Stamm Ermengem. Im hängenden Tropfen erwiesen sich die Bazillen sämtlicher Stämme als nicht sehr bewegliche Stäbchen. Die Art und Weise, wie ich die Versuche anstellte, war dieselbe wie früher. Die Kulturen 18—20 Stunden alt. Es gelang mir jedoch nicht, auf den Platten typische Kolonien zu züchten. Bei Nr. 32 und Nr. 33 liefs ich die Desinfektion nach Herausnahme der Eier aus der geimpften Bouillon fort. Jetzt fand ich die Keime in der Eischale, aber nicht im Eiweifs und Eigelb. Bei zwei vorher geknickten Eiern fand ich die Bac. enteritidis G. bereits nach 24 Stunden im Eiweifs und nach 3 Tagen bereits im Eigelb. Diese beiden Versuche zeigten, dafs die Bazillen nur imstande waren, die verletzte Eiwand zu durchwandern.

Wie ich schon oben bemerkte, waren die Stäbchen aller Stämme nicht stark beweglich. Ich machte nun durch wiederholte Tierpassage dieselben virulenter, ausgenommen Stamm Er-

(Fortsetzung des Textes S. 210.)

Tabelle III. Bac. enteritidis Gaertner.

Lfd. Nr	Bezeichnung des Stammes	Alter des Eies	Wieviel Tage in der Bouillon bei 37° C	Hängender Tropfen	Desinfektion	Eröffnung des Eies	Einlegen von Eischalen in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eiweiß in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eigelb in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einwanderung der Bac. enteritidis G. nach wieviel Tagen bis in
20	alter Stamm	Markt-ei	22 Std.	schw. be-wegl. Stäb-chen	Äther. Alkohol 1 h Subl. Aq.dest.	10 — 17° C	Agar-platten		Agar-platten	—	Agar-platten		keine
21.	do.	Trink-ei	8	do.	do.	45′ — 19° C	.	—	.		.		.
22.	do.	do.	3	do.	do.	1 h — 14° C	.		.	—	.	—	.
23.	do.	do.	3	do.	—	8′ ge-kocht			.	—	.	—	.
24.	do	do.	5	do.		1′ ge-kocht	.		.		—	—	.
25.	do.	do.	9	do.	1 h Sublim.	45′ — 15° C		—			.	—	.
26.	Stamm Dry-galski	Fleck-ei	1	do.	do.	1 h — 17° C		—			.	—	.
27.	do.	do.	6	do.	do.	1 h — 15° C							.
28.	do.	do.	6	do.	—	4′ ge-kocht		—			.	—	.
29.	alter Stamm	Knick-ei	1	do.	1 h Sublim	1 h — 15° C	.		.	+	.	—	nach 1 Tag bis i das Eiweiß.
30.	do.	do.	3	do.	do.	do.	—		.		.	+	nach 3 Tagen bis i das Eigelb.
31.	do.	Markt-ei	3	do.	—	½ h auf 80° C er-hitzt	.	—	.	—	.	—	keine
32.	do.	do.	3	do.	—	1 h — 17° C	.		.		.		nach 3 Tagen bis in die Ei-schale.
33.	Stamm Dry-galski	do.	5	do.	—	1¼ h — 19° C	—	+	—		.	—	nach 5 Tagen bis in die Ei-schale
34.	Stamm Ermen-gem	do.	2	do.	1 h Sublim.	1 h — 16° C	.	—	.	—	.	—	keine.
35.	do.	do.	2	do.	—	½ h auf 80° C er-hitzt	.	—	.	—		—	

(Fortsetzung der Tabelle III.)

Lfd. Nr.	Bezeichnung des Stammes	Alter des Eies	Wieviel Tage in der Bouillon bei 37° C	Hängender Tropfen	Desinfektion	Eröffnung des Eies	Einlegen von Eischale in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eiweiſs in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einlegen von Eigelb in Bouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 37° C	Wachstum auf den Platten	Einwanderung der Bac. enteritidis G. nach wieviel Tagen bis in
[illegible]	virulent gemacht Stamm Drygalski	Marktei	2	stark beweg. Stäbchen	1 h Sublim.	1 h 16° C	Agarplatten		Agarplatten	+	Agarplatten	—	nach 2 Tagen bis in das Eiweiſs
[illegible]	do.	do.	2	do.		1 h auf 80° C erhitzt	.				.	—	Toxinbildung im Eigelb
[illegible]	virulent gemacht alter Stamm	do.	2	do.		1 h 15° C			.	+			nach 2 Tagen bis in das Eigelb
[illegible]	virulent gemacht Stamm Drygalski	do.	2	do.	1½ h Sublim.	do.			.	+		—	do.
40	Stamm Ermengem	do.	7	schw. beweg. Stäbchen	do.	do.			—	—		—	keine
41	do.	do.	[illegible]	do.		1 h auf 60° C erhitzt				—		—	[illegible]
42	virulent gemacht alter Stamm	do.	4	stark beweg. Stäbchen	1 h Sublim.	1 h 11° C		—		—	.		nach 4 Tagen bis in das Eiweiſs
[illegible]	virulent gemacht Stamm Drygalski	do.	[illegible]	do.		1 h auf 70° C erhitzt	.	—	.	—	.	—	Toxinbildung

mengem. Jetzt konnte ich schon nach 2 Tagen im Eigelb die Bac. enteritidis G. alter Stamm und Stamm Drygalski durch die kulturellen Versuche und durch das Tierexperiment nachweisen. Zur Kontrolle lieſs ich nochmals ein Ei 7 Tage lang in mit Stamm Ermengem geimpfter Bouillon liegen und fand wieder keine Bazillen. Mit der Virulenz hatte auch die Beweglichkeit der Stäbchen bedeutend zugenommen. Es scheint, daſs

dieses Moment die Differenz des Resultates mit Bac. enteritidis G. bedingt hat.

Bei den Kochversuchen kann ich aus demselben Grunde nur die Versuche Nr. 37 und Nr. 43 heranziehen, nicht diejenigen, welche ich mit den Kulturen vor der Virulenzsteigerung gemacht habe. Ebenso Nr. 41, Stamm Ermengem. In einem Ei, das $^1/_2$ Stunde auf 80° C oder 1 Stunde auf 70° C erhitzt wird, sind keine Bac. enteritidis G. zu finden. Bemerkenswert sind die Nr. 37, Nr. 41 und Nr. 43 dadurch, dafs einmal auf den Platten trotz der halbstündigen Erwärmung auf 80° C noch Kokken auswachsen, und dafs das Eiweifs eines Eies, auf 60° C 1 Stunde lang erwärmt, noch völlig flüssig wie rohes Eiweifs, nur milchig getrübt ist. Das Eigelb ist auch dünnflüssig. Bei einer einstündigen Erwärmung auf 70° C ist das Eiweifs leicht geronnen, aber immerhin noch zerfliefslich, während das Eigelb zur festen Kugel erstarrt ist. Demnach gerinnt das Eigelb leichter als das Eiweifs.

Zur Identifizierung der im Eiweifs und Eigelb gefundenen Keime habe ich mich auf die kulturellen und Tierversuche beschränken müssen. Ein Gaertner-Serum stand mir nicht zur Verfügung. Bei den Infektions- sowie Intoxikationsversuchen erkrankten sämtliche Mäuse mehr oder weniger schwer. Diejenigen Mäuse, welchen entweder Bouillon, die Eiproben nach gesteigerter Virulenz der Stämme enthielt, subkutan oder intraperitoneal eingespritzt wurde, oder welche Teile von solchen gekochten Eiern frafsen, erkrankten schneller und starben nach einigen Stunden bis Tagen. Dagegen erholten sich die Mäuse nach längerer Zeit, welche mit den Eiern vor der Virulenzsteigerung behandelt waren. Bei den kranken Tieren fiel besonders deutlich die Lähmung der hinteren Extremitäten auf, die ich oft in jede beliebige Lage bringen konnte, und bei den verfütterten Mäusen war das Fell um den After herum mit dünnflüssigen, gelben Eimassen beschmutzt. Die Sektion der gestorbenen Mäuse ergab jedesmal Reizzustände im Verdauungskanal, Schwellung der Milz, Hyperämie der inneren Organe und flüssiges Blut in den Herzhöhlen. Auf allen Platten, die ich

mit dem Milz- und Herzblut der infizierten Mäuse geimpft hatte, wuchsen wieder typische Kolonien mit sehr beweglichen Stäbchen aus, während die Platten, welche ich mit dem der vergifteten Mäuse bestrichen hatte, steril blieben.

Eine einstündige Erhitzung auf 80° C der ganzen Eier oder der mit den Eiproben beschickten Bouillon änderte an der Wirkung nichts. Bemerken möchte ich noch, dafs in den Fällen, in welchen es mir nicht gelang, die Bac. enteritidis G. in den Eiern nachzuweisen, die Mäuse in einer Zeit bis 30 Stunden starben. Demnach müfsten sich im Eiinnern nach Vernichtung der Bazillen Gifte bilden oder solche von aufsen her, aus der geimpften Bouillon, in das Ei durch die Schale hindurch gelangen.

Tabelle IV. Botulinus.

Ei-Nr.	Alter des Eies	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	Einlegen von Schale in Zuckerbouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 22° C	Zuckeragarröhrchen (Wachstum)	Einlegen von Eiweifs in Zuckerbouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 22° C	Zuckeragarröhrchen (Wachstum)	Einlegen von Eigelb in Zuckerbouillon. Davon nach 24 h im Brutschrank von 22° C	Zuckeragarröhrchen (Wachstum)	Einwanderung von Bac. botulinus nach wieviel Tagen bis
44	Trinkei	6	bewegl. Stäbchen		4 [illegible] gekocht	Gelatineplatten		Gelatineplatten	—	Gelatineplatten		Toxinbildg.
45	do.	1	do.	Alter [illegible]	[illegible]						—	nach 4 Tagen bis in das Eiweifs.
46	Marktei	1	do.		[illegible]			—	—	.	—	—
47	do.	[illegible]	do.	[illegible]	[illegible]				+	.	—	nach 9 Tagen bis in das Eiweifs.
48	do.	[illegible]	do.	do.	[illegible]	[illegible]		[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	nach 9 Tagen bis in das Eigelb.

Den Laboratoriumsstamm habe ich im hohen Zuckerröhrchen 48 Stunden im Brutschrank bei 37° C wachsen lassen. Mit diesen Kulturen habe ich Zuckerbouillon reichlich geimpft und

in dieser die desinfizierten Eier anaërob im Brutschrank von 22° C gehalten. Nach 4 Tagen fand ich die Bazillen im Eiweifs und nach 9 Tagen auch im Eigelb.

Mäuse, denen ich solche Eimassen in rohem Zustande auf Brotstückchen zu fressen gab, erkrankten in wenigen Stunden. Auch hier trat die Lähmung der Hinterbeine am deutlichsten hervor. Dieselben erholten sich nach mehreren Tagen wieder, wurden munter und nahmen Nahrung zu sich. Andere Tiere, denen ich eine Öse einer aus den Eiern gewonnenen Zuckeragarkultur in Bouillon intraperitoneal oder subkutan einspritzte, starben fast durchweg am zweiten Tage. Noch schneller trat der Tod ein, wenn ich die mit den Eiproben beschickte Zuckerbouillon erst mehrere Tage im Brutschrank von 26° C stehen liefs und dann die Mäuse damit impfte. Nach Einverleibung des keimfreien Filtrats erkrankten die Mäuse und wurden wieder gesund. Dagegen blieben alle Mäuse gesund, denen ich entweder Bouillon von vorher gekochten Eiern oder das während $^1/_2$ Stunde auf 80° C erhitzte keimfreie Filtrat einspritzte.

Um schliefslich dem Einwande zu begegnen, es möchten sich im Ei auch unter natürlichen Verhältnissen Gifte bilden, die den Tod einer Maus verursachen könnten, oder die subkutane oder intraperitoneale Einverleibung eines ganzen Kubikzentimeters Bouillon dürfte schon an und für sich eine Maus töten, habe ich eine ganze Reihe von Kontrollversuchen gemacht, aus denen sämtliche Mäuse unbeschadet ihrer Gesundheit hervorgegangen sind. Zu diesem Zwecke habe ich Proben von ebenso desinfizierten und gefrorenen Eiern sofort in Bouillon getan, diese mehrere Tage bei 37° C im Brutschrank stehen lassen und davon verschiedenen Mäusen je 1 ccm intraperitoneal und subkutan eingespritzt. Dasselbe habe ich mit anderen Mäusen getan, nachdem ich die desinfizierten Eier entweder trocken in sterilen Gläsern oder in steriler Bouillon mehrere Tage ebenfalls im Brutschrank von 37° C hatte liegen lassen. Die Atmung der Tiere war zwar für die ersten Stunden etwas beschleunigt. Sonst blieben sie munter und frafsen. Keine von ihnen starb.

Daraus folgt, dafs unter den angewandten Versuchsbedingungen das Hühnerei in seinem natürlichen Zustande keine Stoffe enthält, die den Tod einer Maus verursachen.

Zum Schlufs fasse ich meine gewonnenen Resultate kurz zusammen:

1. Koli-, Typhus-, Paratyphus-B-, Gaertner- und Botulinusbazillen besafsen in den vorliegenden Versuchen sämtlich die Fähigkeit, die intakte Eiwand eines Hühnereies zu durchwandern und bis in das Eigelb vorzudringen.
2. Die Kochhitze von 100° C vermag dieselben aufser Bac. botulinus erst nach 8 Minuten im Eigelb zu töten, während eine halbstündige Erwärmung auf 80° C oder eine einstündige auf 70° C die genannten Keime noch nicht vernichtet.
3. Bei Eiern, die in mit Bac. enteritidis Gaertner und botulinus geimpfter Bouillon gelegen hatten, waren Gifte im Eigelb vorhanden, ohne dafs der Nachweis lebender Bazillen gelang.
4. Die Fähigkeit der Bazillen, die Eiwand des Hühnereies zu durchwandern, scheint von der Intensität der Eigenbewegung abhängig zu sein.
5. Das Hühnereiweifs, eine Stunde auf 60° C erwärmt, ist flüssig wie rohes Eiweifs, nur milchig getrübt. Das Eigelb ist auch noch flüssig. Eine Stunde auf 70° C erwärmt, ist das Eiweifs leicht geronnen, aber noch zerfliefslich, das Eigelb dagegen fest erstarrt.

Den Herren Geheimrat Rubner und Prof. Ficker spreche ich für die Anregung und das ständige Interesse meinen ergebensten Dank aus.

Literatur.

1. K. Borchmann, Denkschrift betr. die amtliche Kontrolle des Marktverkehrs mit Eiern. Berlin 1906.
2. Sachs-Müke. Arbeit erscheint in diesem Archiv
3. Piorkowski, Arch. f. Hyg., 1895, XXV.

Die Wärmetönung bei der fermentativen Spaltung der Eiweifskörper und des Leims.

Von

Dr. E. Grafe,

ehemaligem Assistenten des Institutes.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Auf die grofse Bedeutung der Wärmetönung für das Verständnis der biologischen Fermentreaktionen hat vor einigen Jahren R. O. Herzog in einer sehr interessanten Studie[1]) hingewiesen. Die Tatsache, dafs in den letzten Jahren eine Reihe von synthetisierenden Fermenten entdeckt wurde, bei deren Wirkung Wärme gebunden wird, zwingt zu der Annahme eines chemischen Gleichgewichts bei Fermentwirkungen. A priori läfst sich bei solchen Gleichgewichtszuständen nur ihre Beziehung zu der Temperatur bestimmen. Denn hier galten die beiden von van 't Hoff aufgestellten Sätze:

1. Ist bei einer chemischen Reaktion die Wärmeentwicklung = 0, so tritt auch mit Veränderung der Temperatur keine Verschiebung des Gleichgewichts ein. Dieser Fall ist streng nur verwirklicht beim Gleichgewicht von entgegengesetzt optisch aktiven Körpern.

[1]) R. O. Herzog, Fermentreaktion und Wärmetönung, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 37, S. 383

[2]) van 't Hoff, Vorlesungen I, S. 157, 1898.

2. Steigende Temperatur begünstigt das unter Wärmeabsorption gebildete System.

Wenn man diese Sätze auf die fermentativen Vorgänge im tierischen Körper anwendet, der stets das Bestreben hat, innerhalb ganz geringer Schwankungen seine Temperatur auf gleicher Höhe zu halten, so ergibt sich dabei für die exothermischen Prozesse eine Begünstigung, während in diesem Falle das Gleichgewicht zu Ungunsten der entgegengesetzt verlaufenden Reaktion verschoben wird; für die endothermischen, d. h. mit einer Wärmebindung einhergehenden Vorgänge gilt genau das Gegenteil. Da im Organismus Abbau und Aufbau unter Benutzung derselben Bausteine vor sich gehen — ich denke hier in erster Linie an die Eiweifskörper —, so ist es von grofsem Interesse zu erfahren, ob es sich im ersten Falle um einen exothermischen, im zweiten um einen endothermischen Vorgang handelt.

Während sich nun die Wärmetönung für eine Reihe von Fermentreaktionen ohne Schwierigkeit berechnen läfst, da der Energiegehalt der Spaltungsprodukte bekannt ist oder sich unschwer feststellen läfst, ist es bisher nicht möglich gewesen, etwas Sicheres über die Wärmetönung bei der Spaltung der Eiweifskörper zu erfahren, denn es ist bisher noch nicht gelungen, sämtliche Spaltungsprodukte eines Eiweifskörpers quantitativ zu fassen und die Verbrennungswärmen im Einzelnen zu bestimmen.

Nach den bisher in der Literatur vorliegenden Tatsachen, die eventuell Schlüsse zu ziehen gestatten, würde man bei der Spaltung der Eiweifskörper eine ganz geringe Wärmetönung zu erwarten haben.[1])

Auf Grund der vielen Arbeiten von E. Fischer und seinen Schülern aus den letzten Jahren mufs man annehmen, dafs im Eiweifsmolekül die Verknüpfung jedenfalls sehr vieler Bausteine durch die NH-Gruppe geschieht, wie es einige Jahre früher schon Kossel[2]) für möglich gehalten hatte.

---

[1]) van 't Hoff, 8 Vorträge, S. 58, 1902 und E. Fischer und F. Wrede, Sitzungsberichte der Kgl. preufs. Akad. d. Wissensch. Berlin 1904, 687—715.

[2]) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV, S. 189, 1898.

Da es aber zur Zeit noch ganz unbekannt ist, ob die Imidgruppen die einzigen im Eiweifsmoleküle vorkommenden Bindeglieder darstellen, ist der Wert einer solchen Prophezeihung gering.

Eine Antwort auf die vorliegende wichtige Frage kann meiner Meinung nach vorläufig nur durch eine direkte fortlaufende Messung der bei der künstlichen, enzymatischen Verdauung auftretenden Temperaturschwankungen, falls überhaupt solche auftreten, gegeben werden. Da man auf nur sehr geringe Wärmemengen gefafst sein mufs, kann nur ein sehr empfindliches Instrument hier zur Anwendung kommen. Ein solches besitzen wir aber erst seit den Untersuchungen von Rubner[1]) über die bei der Häfegärung frei werdenden Wärmemengen. Zu ihrer Messung konstruierte er ein ebenso einfaches wie fein arbeitendes Kalorimeter. Dies besteht aus einem etwa 300 ccm fassenden Glaskolben, dessen Innenraum von zwei 1/2 cm von einander entfernten Glashüllen umgeben ist. Die dazwischen befindlichen Räume sind völlig luftleer gepumpt und verhindern so einen Wärmeverlust des Instrumentes durch Leitung. Je drei solcher Gefäfse — eines dient zur Kontrolle der Brutschranktemperatur, die beiden anderen zur Aufnahme der zu untersuchenden Substanzen — werden, durch Schirme von einander getrennt, in einen gut regulierten Brutschrank aufgestellt, und durch feine Thermometer, die durch den Hals der Instrumente in die Innenflüssigkeit eintauchen, werden mit der Lupe die Temperaturschwankungen abgelesen. Bezüglich aller Details der Handhabung und der Berechnung verweise ich auf die beiden zitierten Arbeiten Rubners.

Mit diesem überraschend einfachen Apparate, dessen exakte Handhabung allerdings einige Übung erfordert, gelang es Rubner, für die bei der Inversion des Rohrzuckers frei werdende minimale Wärmemenge einen deutlich mefsbaren Ausschlag zu erhalten und daraus die Inversionswärme zu berechnen. Aus der Differenz der Verbrennungswärmen von Rohrzucker und

[1]) Archiv f. Hygiene. Bd. 48, S. 260 und Bd. 49, S. 355, 1904.

Traubenzucker hat Strohmann dafür die Zahl 3,1 kleine Kalorien pro 1 Molekül Invertzucker gefunden, Rubners Wert ist 3,29, stimmt also sehr nahe damit überein. Was die Empfindlichkeit der Kalorimeter betrifft, so wird die stündliche Wärmeentwicklung von 1,7 kleinen Kalorien durch Temperatursteigerung von 0,02° angezeigt; durch Versilberung der Kalorimeter, wie Rubner sie neuerdings anbringen läfst, wird man noch weiter von der Umgebungstemperatur unabhängig und vermag den Wärmeverlust so einzuschränken, dafs die Empfindlichkeit noch etwa zehnfach gröfser ist.

Da also hier noch 0,17 kleine Kalorien mefsbar sind, durfte man es wagen, mit diesen Instumenten an die Beantwortung der Frage nach der Wärmetönung bei der Eiweifsverdauung heranzugehen. Für den Fall einer deutlich positiven Wärmeabgabe hätte man hier noch den grofsen Vorteil, eventuell durch die Kurve Einblicke in die einzelnen Stadien der Eiweifsverdauung zu bekommen, da die verschiedenen Lösungsverhältnisse der Aminosäuren eventuell in irgend einer Weise in der Kurve sich ausprägen könnten. Grofs war allerdings die Wahrscheinlichkeit nicht, denn ich mufste von vornherein auf das Auftreten von nur geringer oder vielleicht gar keiner Wärmebewegung gefafst sein.

Als die Vorversuche bereits im Gange waren, erschienen dann die Arbeiten aus Tangls Institut.[1]) Sie suchten von einer anderen Seite her die Lösung der Frage nach der Wärmestörung in Angriff zu nehmen, und zwar mit Hilfe vergleichender kalorimetrischer Bestimmungen am Anfang und am Ende der Verdauung. Die Methodik war schon vorher zur Bestimmung der Entwicklungsarbeit im Vogelei, Fischei und in Bakterienkulturen von Tangl[2]) ausgearbeitet worden und hatte dort, wenigstens bei den beiden ersten Objekten, gute Dienste geleistet. Sie besteht

[1]) Untersuchungen über die Wärmetönung von Enzymreaktionen. 3 Mitteilungen von Tangl, von Lengyel und Hari.
Pflügers Archiv. Bd. 115, S. 1—52.

[2]) Pflügers Archiv. Bd. 93, S. 327; Bd. 98, S. 475 und 490; Bd. 104 S. 624.

darin, dafs der Energiegehalt eines Verdauungsgemisches durch Verbrennen der Trockensubstanz zu Anfang und nach beliebig lange fortgesetzter Verdauung vermittelst der Berthelot-Mahlerschen Bombe festgestellt wurde. Die Differenz der gefundenen Werte zeigt dann, ob während der Verdauung chemische Energie verloren gegangen ist oder nicht, d. h. ob die Enzymreaktion mit positiver oder negativer Wärmetönung einhergeht. Bevor ich auf die Bedenken eingehe, die der Anwendung der Methode auf die hier in Frage stehenden Prozesse entgegenstehen, möchte ich kurz die Resultate erwähnen, die damit erzielt wurden. v. Lengyel konnte während einer 10 tägigen Verdauungsperiode von Merckschem Ovalbumin durch Pepsin (Merck) keine Energieabnahme feststellen. Die minimalen Differenzen, die sich in einzelnen Fällen fanden, liegen völlig im Bereich der Versuchsfehler.

Hari, der die Wärmetönung der Trypsinverdauung des Eiweifses studierte, fand in allen Fällen eine Abnahme des Energiegehaltes nach der Verdauung, aber in einer besonders in der dritten Versuchsreihe regellosen Weise. Dies fällt nicht nur bei der Betrachtung der Werte der einzelnen Reihen auf, sondern vor allem auch beim Vergleich der Zahlen ein und derselben Reihe miteinander. Obwohl die Ausgangsmaterialien nicht sehr verschieden waren, erhielt Hari, um nur ein Beispiel herauszugreifen, in einem Falle nach 42 tägiger Verdauung einen Energieverlust von 3,99 %, im zweiten Falle nach 45 Tagen einen solchen von 2,36 %, im dritten Falle nach 51 Tagen einen von 0,96 %. Auch die Parallelversuche stimmen meist sehr wenig miteinander überein. So fand Hari in seiner dritten Versuchsreihe nach 4 Tagen 0,10 % Energieverlust, im genau gleichen Parallelversuch dagegen 1,57 %. Diese Regellosigkeit ist, wie Hari meint, nicht so sehr von ausschlaggebender Bedeutung für die Frage nach dem Energieverbrauch während der Verdauung, sondern dürfte in erster Linie dem Versagen der angewandten Methodik beizumessen sein. Die Fehlerquellen verkennt Hari selbst keineswegs und sucht sie nach Möglichkeit auszuschalten, aber sie sind so grofs und vor allem so unkontrollierbar, dafs die damit behafteten Zahlen dadurch sehr unsicher werden. Die Hauptfehler-

quelle ist der unvermeidliche Substanz- und Energieverlust während des zur Verbrennung mit der Bombe notwendigen Eindampfens der Verdauungsflüssigkeiten.

Die Menge Substanz, die gasförmig während des Eindampfens entweicht, läfst sich zur Not noch feststellen, von der Gröfse des dadurch bedingten Energieverlustes kann man sich jedoch in keiner Weise eine irgendwie genaue Vorstellung machen. Ein zweiter Einwand ist der, dafs die Versuche gar nicht unter physiologischen Verhältnissen angestellt worden sind, da die Reaktion der Verdauungsgemische entweder neutral oder schwach sauer war, während doch der Pankreassaft in alkalischer Lösung das Optimum seiner Wirksamkeit hat. Gleichwohl geht aus der dauernden Abnahme der koagulierbaren N-Substanz hervor, dafs die Spaltung der Eiweifskörper einigermafsen kräftig vor sich ging.

Meiner Überzeugung nach haben von allen gefundenen Zahlen nur die einen Wert, die eine geringe Differenz des Energieinhaltes zwischen dem verdauten und dem unverdauten Gemisch ergeben haben, da offenbar in diesen Fällen beim Eindampfen wenig Substanz und Energie verloren ging. Danach müfste man also annehmen, dafs während einer 51 tägigen Verdauungsperiode der Energiegehalt des Verdauungsgemisches nur um 0,96 % abnähme. Irgendeine Genauigkeit kann dieser Zahl nicht zukommen, sie ist jedenfalls eher zu niedrig als zu hoch und deutet darauf hin, dafs der Energieverlust während der Verdauung entweder sehr gering oder gar nicht vorhanden ist. Diesen Schlufs zieht auch Hari aus seinen Resultaten. Zur Entscheidung der Frage ist der hier eingeschlagene Weg ungeeignet.

Ich gehe nun zur Mitteilung der eigenen, mit der oben beschriebenen, kalorimetrischen Methode gewonnenen Resultate über.

Die ersten Versuche mufsten mit den etwas weniger empfindlichen, nicht versilberten Kalorimetern gemacht werden, da hier die Trägheit des Instrumentes viel geringer ist und daher vor allem auch die Einstellung bei sinkender Temperatur viel schneller erfolgt. Erst als mit den gewöhnlichen Kalorimetern kein Ausschlag erhalten wurde, konnte ich darangehen, die Frage nach

der Wärmetönung mit den versilberten Instrumenten endgültig zu entscheiden.

Pepsinverdauung.

Nr. I. Versuch mit unversilberten Kalorimetern.

Versuch Nr. 16. Füllung von Kalorimeter Nr. 1 mit 20 g chemisch-reinem Kasein (Höchst) + 10 ccm Magensaft + 10 ccm Toluol + 290 ccm 0,35 proz. Salzsäure. Kalorimeter Nr. 2 diente zur Kontrolle der Temperatur des Brutschrankes und war mit 300 ccm 1 prom. Sublimatlösung gefüllt. Kalorimeter Nr. 3 wurde in gleicher Weise beschickt wie Nr. 1 und diente als Parallelversuch zu Nr. 1.

Die Füllung der Kalorimeter geschah erst, als die Temperatur der drei Kalorimeter bis auf $^1/_{100}{}^0$ dieselbe war.

Beginn des Versuchs (Einfüllen der Flüssigkeiten in Nr. I und Nr. III) um $^1/_2$1 Uhr, am 11. III. 07.

Die Thermometerablesungen waren die folgenden:

Datum	Stunde	Temperatur in Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2	Temperatur in Nr. 2	Differenzen von Nr. 2	Temperatur in Nr. 3	Differenzen mit Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2
11. III. 07	3	38,33	+ 0,03	38,30	0,07	38,33	0,00	+ 0,03
	9	38,38	+ 0,01	38,37		38,35	− 0,03	− 0,02
12. III.	9	38,51	+ 0,01	38,50	0,13	38,50	− 0,01	0,00
	5	38,54	− 0,01	38,55	0,05	38,535	− 0,005	+ 0,015
13. III.	9	38,53	− 0,01	38,54	0,01	38,545	+ 0,015	+ 0,005
	1	38,52	− 0,02	38,54	0,00	38,53	+ 0,01	+ 0,01
	6	38,52	− 0,01	38,53	0,01	38,53	+ 0,01	0,00
14. III.	9	38,365	− 0,005	38,37	0,16	38,38	+ 0,015	+ 0,01
	5	38,38	− 0,02	38,40	0,03	38,38	0,00	+ 0,02
15. III.	10	38,41	− 0,01	38,42	0,02	38,42	+ 0,01	0,00
16. III.	10	38,46	− 0,01	38,47	0,05	38,48	+ 0,02	+ 0,01
17. III.	10	38,46	− 0,01	38,47	0,00	38,48	+ 0,02	+ 0,01
18. III.	10	38,48	− 0,04	38,52	0,05	38,52	+ 0,04	0,00
19. III.	10	38,31	− 0,03	38,34	0,18	38,32	+ 0,01	− 0,02
20. III.	10	38,43	− 0,01	38,44	0,10	38,46	+ 0,03	+ 0,02[1]

[1]) Abbruch des Versuches.

Nr. II. Versuch mit Silberkalorimetern.

Versuch Nr. 24. Kalorimeter Nr. 1 wurde mit 30 g gut ausgewaschenem, zwischen Fliefspapier getrocknetem Fibrin + 1 g Pepsin (Grübler) + 10 ccm Toluol + 290 ccm 0,35 proz. Salzsäurelösung gefüllt. Kalorimeter Nr. 2 diente wieder als Kontrolle für die Temperatur, Kalorimeter Nr. 3 wurde mit gleicher Füllung wie Nr. 1. zum Parallelversuch benutzt. Um bei der Trägheit der Instrumente möglichst gleiche Temperaturen zu Beginn des eigentlichen Versuchs zu bekommen und die durch die Quellung etwa auftretenden Wärmebewegungen auszuschliefsen, wurde das Ferment erst etwa 24 Stunden später, als die Temperaturen in den Kalorimetern 38,31°, 38,30° und 38,29° betrugen, zugegeben, und zwar am 25. V. 07, um 11 Uhr.

Die Thermometerablesungen waren folgende:

Datum	Stunde	Temperatur in Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2	Temperatur in Nr. 2	Differenzen von Nr. 2	Temperatur in Nr. 3	Differenzen mit Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2
25. V.	12½	38,25	− 0,03	38,28	0,06	38,23	− 0,02	− 0,05
	9	38,33	− 0,01	38,34		38,31	− 0,02	− 0,03
26. V.	9½	38,43	− 0,01	38,44	0,10	38,42	− 0,01	− 0,02
	6½	38,46	± 0,00	38,46	0,02	38,44	− 0,02	− 0,02
27. V.	10	38,47	− 0,04	38,51	0,05	38,49	+ 0,02	− 0,02[1]

Bei Beendigung des Versuches war noch nicht alles Fibrin in Lösung gegangen.

Trypsinverdauung.

Nr. III. Versuche mit unversilbertem Kalorimeter.

Nr. 5. Verdauung von Gelatine. Kalorimeter Nr. 1 wurde mit 30 g gelöster Gelatine + 20 ccm frischem Pankreassaft[2] + 10 ccm Toluol + 270 ccm 0,8 proz. Sodalösung gefüllt. Kalorimeter Nr. 2 diente wieder zur Kontrolle, Kalorimeter Nr. 3 zum Parallelversuch. Beginn des Versuchs am 18. November 1906, um 12 Uhr.

---

1) Abbruch des Versuches.

2) Den frischen Pankreassaft sowie den Magensaft verdanke ich der grofsen Liebenswürdigkeit von Herrn Dr. Abderhalden am I. Chemischen Institut.

Datum	Stunde	Temperatur in Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2	Temperatur in Nr. 2	Differenzen von Nr. 2	Temperatur in Nr. 3	Differenzen mit Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2
18. XI.	4	37,91	+ 0,05	37,86	0,08	37,935	+ 0,025	+ 0,075
	9	37,95	+ 0,01	37,94		37,955	+ 0,005	+ 0,01
19. XI.	9	38,015	+ 0,015	38,00	0,06	38,015	0,00	+ 0,015
	1	38,015	+ 0,015	38,00	0,00	38,01	— 0,005	+ 0,01
	5	38,015	— 0,005	38,02	0,02	38,015	0,00	— 0,005
20. XI.	10	37,855	0,00	37,855	0,165	37,82	— 0,035	— 0,035
	1	37,78	0,00	37,78	0,075	37,77	— 0,01	— 0,01
	6	37,78	0,00	37,78	0,00	37,77	— 0,01	— 0,01
21. XI.	10	37,735	+ 0,005	37,73	0.05	37,72	— 0,015	— 0,01
	1	37,715	+ 0,005	37,71	0,02	37,69	— 0,025	— 0,02
	7	37,75	+ 0,01	37,76	0,05	37,75	0,00	— 0,01
22. XI.	10	37,78	0,00	37,78	0,02	37,775	— 0,005	— 0,005
	5	37,80	— 0,01	37,81	0,03	37,79	— 0,01	— 0,02
23. XI.	10	37,83	+ 0,01	37,82	0,01	37,82	— 0,01	0,00
	1	37,85	— 0,005	37,855	0,035	37,85	0,00	— 0,005
25. XI.	10	38,02	0,00	38,02	0,165	38,025	+ 0,005	+ 0,005
	7	38,13	— 0 01	38,14	0,12	38,135	+ 0,005	— 0,005
26. XI.	10	38,225	— 0,005	38,23	0,09	38,225	0,00	— 0,005
	7	38,29	— 0,02	38,31	0,08	38.305	+ 0,015	— 0,005
27. XI.	10	38,31	— 0,015	38,325	0,015	38,315	+ 0,005	— 0,01
	7	38,33	— 0,005	38,335	0,01	38,33	0,00	— 0,005[1])

Nr. 14. Versuch mit Kasein. Kalorimeter Nr. 1 wurde mit 30 g Kasein (Höchst) + 10 ccm Toluol + 20 ccm Pankreassaft + 270 ccm 0,8 proz. Sodalösung gefüllt. Nr. 2 war Kontrolle, Nr. 3 diente zum Parallelversuch.

Beginn des Versuchs am 12. Februar 1907, 10½ Uhr.

Die Temperaturen in der Folgezeit waren:

Datum	Stunde	Temperatur in Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2	Temperatur in Nr. 2	Differenzen von Nr. 2	Temperatur in Nr. 3	Differenzen mit Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2
12. II.	3	38,27	— 0,02	38,29	0,01	38,275	+ 0,005	— 0,015
	8	38,26	— 0,02	38,28		38,27	— 0,01	— 0,01
13. II.	9½	38,155	— 0,005	38,16	0,12	38,135	— 0,02	— 0,025
	12½	38,125	— 0,025	38,15	0,01	38,15	0,025	0.00
	7	38,18	0,00	38,18	0,03	38,175	— 0,005	— 0,005
14. II.	9½	38,135	— 0,015	38,15	0,03	38,14	+ 0,005	— 0,01
15. II.	9½	38,15	— 0,005	38,155	0,005	38,15	0,00	— 0,005

[1]) Abbruch des Versuchs.

Der Versuch wurde noch 2 Wochen weiter fortgeführt, ohne dafs sich nennenswerte Differenzen zwischen den Temperaturen fanden. Bei Beendigung war die ganze Flüssigkeit klar, in dem Sediment befanden sich Tyrosin und Leucin in gröfserer Menge.

Nr. IV. Versuche mit Silberkalorimeter.

Nr. 25. Füllung von Kalorimeter Nr. 1 mit 30 g Fibrin + 1 g Trypsin (Grübler) + 10 ccm Toluol + 290 ccm 0,8 proz. Sodalösung. Kalorimeter Nr. 2 diente wieder zur Kontrolle, Kalorimeter Nr. 3 als Parallelversuch. Um bei der Trägheit der Silberkalorimeter möglichst gleiche Temperaturen zu erhalten, wurden die Gemische ohne Fermente 24 Stunden in den Kalorimetern stehen gelassen. Am 28. V. 07, 11½ Uhr, als die Temperaturen der drei Kalorimeter 38,35°, 38,44°, 38,41° betrugen, wurde die auf gleiche Temperatur gebrachte Lösung des Fermentes in 10 ccm 0,8 proz. Sodalösung hinzugegeben.

Es wurden dann die folgenden Temperaturen abgelesen:

Datum	Stunde	Temperatur in Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2	Temperatur in Nr. 2	Differenzen von Nr. 2	Temperatur in Nr. 3	Differenzen mit Nr. 1	Differenzen mit Nr. 2
28. V.	12	38,46	+ 0,05	38,41		38,38	— 0,08	— 0,03
	4	38,46	+ 0,04	38,42	0,01	38,39	— 0,07	— 0,03
	11	38,44	+ 0,03	38,41	0,01	38,38	— 0,06	— 0,03
29. V.	8	38,31	+ 0,03	38,28	0,13	38,28	— 0,03	0,00
	11	38,31	+ 0,04	38,27	0,01	38,27	— 0,04	0,00
	7	38,30	+ 0,02	38,28	0,01	38,27	— 0,03	— 0,01
30. V.	8½	38,22	+ 0,01	38,23	0,05	38,24	+ 0,02	+ 0,01
	11	38,24	0,00	38,24	0,01	38,24	0,00	0,00
31. V.	11	38,235	— 0,005	38,24	0,00	38,245	+ 0,01	+ 0,005[1]

Aus den angeführten Versuchen geht wohl mit Sicherheit hervor, dafs die Wärmetönung bei der fermentativen Spaltung der Eiweifskörper und des Leims = 0 ist. Ich habe die Versuche in gleicher Weise mit den verschiedensten Eiweifskörpern und Fermentpräparaten wiederholt und zum Teil über Wochen bis zum Verschwinden der Biuretreaktion ausgedehnt. Da die geringsten Störungen in der Regulation des Brutschrankes sich

[1]) Abbruch des Versuches.

gleich sehr unangenehm bemerkbar machen, gelang es nicht immer so gut übereinstimmende Werte zu bekommen, aber alle sprachen in gleicher Weise dafür, dafs keine irgendwie sicher nachweisbare Wärmetönung vorhanden ist.

Da die hydrolytische Spaltung im tierischen Organismus zweifellos ungleich viel rascher und energischer verläuft wie im Brutschrank, sind in biologischer Beziehung die ersten 24 Stunden der Fermenteinwirkung, wo sie sich am kräftigsten äufsert, von hauptsächlichster Bedeutung. Jedoch tritt auch hier keinerlei nachweisbare Wärmetönung auf. Für den Energiehaushalt des Organismus scheint mir diese Tatsache von grofser Bedeutung zu sein. Sie ist ein Beweis für die Zweckmäfsigkeit seiner Einrichtung. Da der Körper aus denselben Elementen, in die er die ihm zugeführten Eiweifskörper spaltet, seine eigenen Eiweifskörper in wesentlich gleicher Weise wieder aufbaut, dürfen wir erwarten, dafs auch bei diesem synthetischen Prozefs keine irgendwie nennenswerte Wärmetönung auftritt. Er vermeidet so das offenbar nutzlose Spiei von Energie, dafs er eine Wärmemenge erst in Freiheit setzt, die er unmittelbar nachher wieder binden mufs. Ferner geht aus der oben erwähnten Tatsache hervor, dafs der Organismus durch die Verdauung der Eiweifskörper keinen Zuwachs an Energie gewinnt, auch nicht vorübergehend.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dafs dieser Nullwert der Wärmetönung durch die sich gegenseitig aufhebende Einwirkung verschiedener Faktoren mit entgegengesetzten Wärmebewegungen zustande kommt. Alle vermögen wir wohl noch nicht zu übersehen, aber doch wenigstens einige der wichtigsten.

Bei der Quellung von Eiweifs, Albumosen und Gelatine, die möglichst salzfrei gemacht sind, entstehen gut mefsbare und berechenbare Wärmemengen[1]), bei der nachträglichen Lösung findet jedoch Wärmebindung statt. Bei der Verdauung gehen

[1]) Rubner, Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXI, S. 307, ferner Pascheles, Pflügers Archiv. Bd. 67, S. 219.

beide Prozesse zum Teil nebeneinander her und heben sich daher wohl bis zu einem gewissen Grade in ihrer Wirkung auf.[1])

Ein dritter Faktor könnte die uns hier besonders interessierende Spaltung des gelösten Eiweifses sein.

Um den Einflufs dieses Prozesses getrennt von Quellung und Lösung zu untersuchen, verdaute ich frisches Pferdeserum mit Pepsin, erhielt aber auch hier keinerlei Anhaltspunkte für eine Wärmetönung. Da zur Prüfung des Pankreassaftes in dieser Richtung das Serum wegen seiner starken Resistenz gegen Trypsin[2]) ungeeignet ist, nahm ich in Wasser gelöstes Hühnereiweifs und Gelatine (vgl. den oben mitgeteilten Versuch), das ja hinsichtlich der Art der Spaltung mit den Eiweifskörpern grofse Ähnlichkeit besitzt. Das Ergebnis war in beiden Fällen das Fehlen einer Wärmetönung.

Ob und welchen Einflufs die im Verdauungsgemisch vorhandenen Salze auf die Wärmebewegung haben, läfst sich nicht bestimmen, da eine wirksame Eiweifsverdauung in einem völlig salzfreien Medium auf die gröfsten Schwierigkeiten stöfst.

Ebensowenig läfst sich mit Sicherheit die Frage beantworten, ob man die von mir bei den verschiedensten, nie chemisch ganz reinen Eiweifspräparaten gewonnenen Resultate auf reine Eiweifskörper, deren Darstellung ja bisher noch nicht einwandsfrei gelungen ist, ohne weiteres übertragen darf. E. Fischer und F. Wrede[3]) haben die Verbrennungswärmen einiger Polypeptide und Aminosäuren bestimmt, und aus ihren Zahlen ergibt sich für die Spaltung chemisch reiner Peptide eine geringe positive Wärmetönung, die leicht mit dem Rubnerschen Silberkalorimeter nachzuweisen wäre; Versuche in dieser Richtung habe ich leider aus äufseren Gründen nicht anstellen können. Bezüglich reiner Eiweifskörper würden sie jedoch ebensowenig wie die

---

[1]) Wiedemann und Lüdeking, Wiedemanns Annalen. N. F. XXV., S. 145.

[2]) Vgl. C. Oppenheimer und H. Aron, Hofmeisters Beiträge. Bd. IV, 7./8. Heft, S. 279.

[3]) A. a. O.

Angaben von Fischer und Wrede einen sicheren Schlufs gestatten.

In biologischer Beziehung sind diese rein chemischen Fragen auch nur von untergeordneter Bedeutung.

Zum Schlufs erlaube ich mir, Herrn Geheimrat Rubner für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Berlin, Mai 1907.

Können lebende Dysenteriebazillen die Eiwand des frischen Hühnereies durchwachsen?

Von

Dr. Sachs-Müke,

Oberarzt beim Magdeburgischen Train-Bataillon Nr. 4.

(Aus dem Königlichen hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. Rubner.)

Die neueren Erfahrungen bezüglich des Eierhandels zu Berlin[1]) haben ergeben, dafs ein grofser Teil der aus Sibirien, dem europäischen Rufsland und Galizien eingeführten Eier häufig halb verdorben ist und dafs auch die sog. Trinkeier alte und nicht recht wohlschmeckende Ware sind. Dies unliebsame Ergebnis ist darauf zurückzuführen, dafs

1. an Ort und Stelle in den genannten Ausfuhrländern die zur Einfuhr nach Deutschland bestimmten Eier nicht mit derselben Sorgfalt und Rücksicht behandelt werden, wie die nach England und Frankreich einzuführenden Eier;
2. ihr Transport Wochen, ja Monate dauert, und
3. sie auch in Deutschland noch lange im Zwischenhandel liegen.

---

1) Borchmann, Denkschrift betreffend die amtliche Kontrolle des Marktverkehrs mit Eiern. Berlin 1906.

Von seiten der Behörden werden daher energische Mafsregeln zur Verhütung der fortschreitenden Minderwertigkeit der Eier ergriffen werden müssen. Erhöhte Bedeutung würde die polizeiliche Beaufsichtigung des Eierhandels erlangen zu Zeiten, wo in den die Eier ausführenden Ländern Epidemien, wie z. B. im Jahre 1905 Cholera, an unserer Ostgrenze, herrschen. Es erscheint nicht ausgeschlossen, dafs durch Eier, die aus verseuchten Gegenden stammen, Krankheitskeime eingeschleppt werden. Diese können an der äufseren Schale haften oder in das Innere der Eier gedrungen sein. Die Möglichkeit der Verschleppung von Choleravibrionen durch Eier ist zuerst durch Stabsarzt Wilm[1]) experimentell nachgewiesen, aber wenig beachtet worden. Das gleiche gilt von den Untersuchungen Piorkowskis[2]) betreffend des Durchdringens der Eier seitens der Typhusbazillen.

Bei der oft hochgradig unreinlichen Behandlung der Eier sollte man sich klar machen, dafs dem Hindurchtreten von Keimen wie anderer schädlicher Substanzen sehr häufig kein ernstes Hindernis entgegensteht. Bei den Handelseiern kommt oft sehr feinschalige Ware in Betracht und man sieht auch allerlei leichte Verletzungen und Schalenrisse. Vor einiger Zeit ist auch die Vermutung ausgesprochen worden, es möchten gelegentlich auch Ruhrbazillen in das Ei eindringen können. Man darf sich aber bei solchen Annahmen nicht von einfachen Analogien leiten lassen; im Gegenteil, ehe nicht eine bestimmte Spezies genauer untersucht ist, wird man ein sicheres Urteil nicht abgeben können. Wenn also im Jahre 1906 von einem Teil der Tagespresse von der Übertragung der Ruhr durch Eier gesprochen wurde, ist das nichts mehr als eine blofse Annahme.

Bei der Hinfälligkeit der Ruhrbazillen ist eine Übertragung infolge Haftens der Bazillen an der äufseren Schale bei der langen Transportzeit der meisten Eier kaum wahrscheinlich. Dagegen verdient die Frage, ob lebende Bazillen, namentlich

1) Archiv f. Hygiene, 1895, Bd. XXIII, S. 145.

2) Daselbst, 1895, Bd. XXV, S. 145.

Ruhrbazillen, die Wand des Hühnereies durchwandern können, ein näheres Eingehen auf die Sache.

Um zu einer Beantwortung dieser Frage zu gelangen, wurde von mir unter Verwendung je eines Stammes Shiga und Flexner, die kulturell und durch Agglutination auf ihre Echtheit geprüft waren, sowie unter jeweiliger Abimpfung einer frischen, höchstens 18stündigen Agarkultur, eine Reihe von Versuchen gemacht. Die verwendeten Eier waren sämtlich (November und Dezember!) als frische Trinkeier gestempelt. Die Impfung der Eier geschah, wie von Günther[1]) beschrieben (Verschorfung mit glühendem Messer, Zusiegeln). Bei der Entnahme von Material aus dem Ei wurde so verfahren, dafs von dem der Impfstelle entgegengesetzten Ende aus nach dieser fortschreitend an drei Stellen, dann an der Impfstelle selbst in Bouillon abgeimpft und zuletzt der Inhalt des Eies mit steriler Pipette ausgesogen wurde.

Versuch I.

Bleiben die Bazillen im rohen Ei überhaupt lebensfähig?

Die Impfnadel wurde von der Impfstelle aus in ganzer Länge durch das Ei geführt, so dafs Eiweifs und Dotter infiziert werden konnten. Nach 24 Stunden bis zu 17 Tagen wurden aus den geimpften Eiern Bazillen gezüchtet, die kulturell und durch Agglutination als Ruhr (Shiga bzw. Flexner) festgestellt wurden. Daraus ergibt sich, dafs in künstlich infizierten Eiern sich die Ruhrbazillen bis zu mindestens 17 Tagen lebensfähig halten können.

Versuch II.

Wie weit dringen die Bazillen von einem Punkte aus in das übrige Ei vor?

Es wurden Eier an einem Pol geimpft, aber so, dafs die Nadel nur sehr wenig in das Innere eingeführt wurde. Nach 24 Stunden wurde in Bouillon an den oben bezeichneten Stellen abgeimpft. Aus sämmtlichen Entnahmestellen wurden Ruhr-

1) Günther, Bakteriologie, Leipzig 1906, S. 212.

bazillen gezüchtet. Diese verbreiten sich also von der Impfstelle aus innerhalb von 24 Stunden in dem ganzen übrigen Ei.

Bei anderen, in dieser Weise geimpften Eiern wurde so verfahren, dafs rings um die Mitte der Eier eine 3 mm breite Zone verschorft und mit glühendem Messer geöffnet wurde. Darauf wurden Proben aus dem nun mehr zugängigen Eiweifs und Eigelb entnommen.

In den angelegten Kulturen wurden Ruhrbazillen gefunden, die hiernach von der Impfstelle aus, gleichfalls in 24 Stunden, sowohl in das Eiweifs als auch in das Eigelb vorgedrungen waren.

Versuch III.

Welchem Einflufs unterliegen unverletzte Eier, die in frische Nährbouillon mit Ruhrbazillen gelegt sind.

In solche Bouillon wurde eine ganze Anzahl von Eiern gelegt, die nach verschieden langem, bis zu dreiwöchigem Verweilen darin, untersucht wurden.

Dabei ergab sich, dafs während dieser Zeit die Nährbouillon stets lebensfähige Ruhrbazillen enthielt, die also hinreichend Gelegenheit hatten, bei Erschöpfung der Nährflüssigkeit in das Innere der Eier und zu ihren noch unverbrauchten, aufserordentlich guten Nährstoffen vorzudringen. Es fanden sich in dem Innern der Eier aber niemals Ruhrbazillen. Dagegen gelang es, wenn man die äufsere Eischale, die vorher mit sterilem Fliefspapier abgetrocknet wurde, in Bouillon brachte, Ruhrbazillen nachzuweisen, die nur aus der Nährbouillon stammen konnten. In zwei Fällen wurden nach 3 Wochen aus dem Innern der Eier durch das Plattenverfahren Kartoffelbazillen, aber keine Ruhrbazillen gezüchtet, während in der Nährbouillon noch lebende Ruhrbazillen vorhanden waren. Zur Kontrolle, ob in diesen beiden Fällen die Fäulniserreger nicht durch eine ungenügende Reinigung der betreffenden Eier von der äufseren Schale her in das Innere eingedrungen waren, wurden folgende Versuche gemacht:

1. Wie oben angegeben gereinigte Eier wurden in sterile Bouillon gelegt. Es waren nach 3 bzw. 8 Tagen die Eier und ihr Inhalt keimfrei.
2. Nur mit Wasser abgewaschene Eier wurden in sterile Bouillon gelegt. Nach denselben Zeiträumen wurden aus der Bouillon und von der äufseren Schale gelbe Kolonien bildende Kokken gezüchtet, während die von der Schalenhaut, dem Eiweifs und dem Eigelb entnommenen Proben keimfrei waren.

Hiernach ist es als erwiesen zu erachten, dafs aus Nährbouillon stammende Ruhrbazillen nicht in das unverletzte Ei einwandern, auch nicht, wenn es faul, d. i. durch andere Keime vorher infiziert war.

Versuch IV.

Wie verhalten sich Sprungeier bei Versuch III?

Unverletzte Eier wurden nach Anbringung kleiner künstlicher Öffnungen und kaum sichtbarer Sprünge in die Nährbouillon gelegt. Am andern Tage wurde von der der Öffnung gegenüberliegenden Stelle abgeimpft. Es wurden durch die Kultur Ruhrbazillen nachgewiesen.

Die Bazillen waren also in diesen Fällen nicht durch die Schale, sondern mittels der Bouillon durch die vorhandenen Öffnungen bzw. Sprünge in das Eiinnere vorgedrungen. Unzweifelhaft werden durch den Transport der Eier auch solche kleine, dem Auge kaum oder gar nicht erkennbaren Sprünge hervorgerufen, so dafs bei unverletzter Schalenhaut (Knickeier) einerseits das Auslaufen des Eiinneren verhindert, anderseits das Eindringen von Keimen, auch von pathogenen, ermöglicht wird. Eine reine Infektion der Eier mit Ruhrbazillen dürfte aber wohl äufserst selten sein, da die bestehende Eingangspforte auch vielen anderen Keimen offen ist. Solche Eier würden sich schon äufserlich durch ihre Verderbnis als genufsunfähig bemerkbar machen. Durch das Vorhandensein kleinster, auf dem Transport entstandener Verletzungen der Schale erklärt sich auch die Ansteckung gesunder Eier durch benachbarte ausgelaufene faule.

Versuch V.

Können im Eiinnern vorhandene Ruhrbazillen durch Kochen der Eier unschädlich gemacht werden?

Zu diesem Versuche wurden infizierte Eier verwendet, deren Inhalt auf das Vorhandensein von lebensfähigen Ruhrbazillen geprüft war. Die versiegelte Öffnung wurde noch aufserdem zum Schutze gegen das heifse Wasser mit einer dicken Schicht Gips umgeben. Die Eier wurden weich gekocht (2 Minuten), wachsweich (4 Minuten), hart (6 Minuten). Nach dem Kochen konnten weder aus dem Eiweifs noch aus dem Eigelb Ruhrbazillen gezüchtet werden. Dies entspricht der geringen Widerstandsfähigkeit der Ruhrbazillen. Es waren nun noch die Temperaturen im Eiinnern zu bestimmen, die zur Abtötung der Ruhrbazillen nötig sind. Verschiedene hierüber angestellte Versuche ergaben, dafs das Eiweifs des Hühnereies bei 64° gerinnt, die wachsweiche Konsistenz des Eigelbs bei etwa 75° eintritt, und das Eigelb bei 78 bis 80° völlig hart wird.

An und für sich ist das Hartwerden des Eies kein bestimmtes Kriterium dafür, dafs eine bestimmte Temperatur eingewirkt hat. Ein Kibitzei ist z. B. nach 10 Minuten langem Kochen noch weich. Da ist es denn auch denkbar, dafs bei Hühnereiern, ganz abgesehen von der Dicke der Schale auch die Rasse einen Einflufs auf das Gerinnen des Gelbeies, hervorgerufen durch geringe Unterschiede in seiner chemischen Zusammensetzung, besitzt. Zu berücksichtigen ist auch der Umstand, dafs auf das Ei eine sich allmählich steigernde, bei hinreichend langem Kochen 100° betragende Hitze einwirkt.

Jedenfalls ist als erwiesen zu betrachten, dafs für Ruhrbazillen, und für viele andere Mikroorganismen auch, das hartgekochte Ei als absolut steril gelten kann.

Versuch VI.

Wie verhalten sich an der äufseren Eischale angetrocknete Ruhrbazillen?

Es wurden Eier in Bouillonkultur von lebenskräftigen Ruhrbazillen getaucht und in ein steriles Glas entweder auf trockenes steriles Fliefspapier oder auf mit steriler physiologischer Koch-

salzlösung angefeuchtetes gelegt. Die Bazillen hatten also Gelegenheit, an der äufseren Eischale zu haften. Die Eier kamen in den Brutschrank bei 37°, also bei Ausschlufs des Lichtes in trockener bzw. feuchter Atmosphäre unter die für die Entwicklung der Bazillen günstigsten Bedingungen. Die Eier blieben bis zu 10 Tagen im Brutschrank. Bei allen waren die aus dem Eiinneren und die von der Eihaut entnommenen Proben nach fünftägigem Verweilen der Bouillonkulturen im Brutschrank keimfrei. Die von der äufseren Schale entnommenen Proben hatten die Bouillon nach 2 Tagen getrübt. In den aus diesen getrübten Bouillonkulturen gefertigten Platten konnten Ruhr- und Kartoffelbazillen nachgewiesen werden. Von der äufseren Schale derjenigen Eier, die acht Tage lang trocken aufbewahrt wurden, konnten Ruhrbazillen nicht mehr nachgewiesen werden, was mit der Tatsache übereinstimmt, dafs sich Ruhrbazillen in trockenem Zustand nicht länger als 8 bis 10 Tage halten.[1]) Also auch an der äufseren Schale angetrocknete Ruhrbazillen vermögen nicht in das Innere des Eies vorzudringen, trotzdem ihnen ein in jeder Beziehung günstiger Nährboden in nächster Nähe winkt.

Aus vorstehenden Versuchen ergibt sich, dafs lebende Ruhrbazillen die Wand des frischen, unverletzten Hühnereies nicht zu durchwandern vermögen, dafs sie bei ihrer geringen Lebensfähigkeit und dem langen Transport, sowie der Zeit, wo sich die Eier im Zwischenhandel befinden, an der äufseren Eischale höchst wahrscheinlich absterben und dafs sie in Knickeiern durch Hartkochen vernichtet werden, falls die Eier in diesem Falle durch das Eindringen anderer Organismen sich nicht schon auch den groben Sinnen als verdorben zu erkennen gegeben haben.

Aber man wird sich die Krankheitsübertragung durch Eier, wie auch andere ähnlicher Natur, nur als Ausnahmefälle vorstellen müssen. Hunderte von Verschleppungen von Infektions-

1) Kolle, Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie u. die Infektionskrankheiten. S. 195.

erregern bleiben ohne Erfolg, bis eine zu ihrem Ziele gelangt und eine Ansteckung hervorruft. Die Gefahren steigen natürlich beim Genuſs halbgarer oder auch roher Eier. Bei den beiden letzteren konnten ja die Giftstoffe in das Ei gekommen sein, wobei es sich möglicherweise um Toxine handeln kann, die der Siedehitze standhalten.

Unter der minderen importirten Ware spielen die Fleckeier eine wichtige Rolle. Nach Borchmann[1]) werden in Fleckeiern häufig Schimmel- und Hefepilze gefunden. Ihre Keime sollen besonders bei Kühlhauseiern und Eiern dritter Sorte nach Auflösung des die Kalkschale überziehenden Oberhäutchens (cuticula) sich aus der Luft auf dem Ei niederschlagen und ihre Mycelien durch die Porenkanäle der Kalkschale und durch die Schalenhaut in das Eiinnere treiben.

Sehr häufig sind auch die bakteriellen Infektionen, die von Schrakamp und dann von Zörkendörfer[2]) näher untersucht worden sind. Dabei ist namentlich auch eine im Innern des Huhnes stattfindende Infektion der Eier zugegeben. Es ist auch die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daſs Keime, die während der Bildung der Kalkschale in diese, bzw. an ihrer Innenwand, abgelagert wurden, von hier aus in das Ei einwandern, wenn dieses seine natürliche Widerstandskraft eingebüſst hat. Bei den innigen anatomischen Beziehungen, wie sie bei Vögeln durch die Kloake zwischen Darm- und Geschlechtsorganen bestehen, halte ich die Verderbnis der Eier durch eine im mütterlichen Organismus stattfindende Infektion für viel wahrscheinlicher und häufiger als eine ektogene. Ich behalte mir vor, weitere Versuche in dieser Richtung anzustellen.

Der mangelnde Beweis einer solchen Schädlichkeit derartiger Eier beruht vielleicht eben auf mangelhafter Beobachtung. Wenn man sich vielleicht einmal mehr an den Gedanken gegewöhnt haben wird, daſs auch Eier schädlich sein können, wird man bei genauerem Zusehen vielleicht in Zukunft auch

1) S. o. daselbst auch ausführliche Literaturangabe.

2) Archiv f. Hygiene, 1893, Bd. XVI, S. 367.

Eiintoxikationen finden, wie man solche Intoxikationen bei vielen anderen Nahrungsmitteln, die noch lange nicht so gute Bakteriennährböden, wie gerade die Eier sie sind, gefunden hat.

Von diesem Gesichtspunkte aus ist die Frage noch gar nicht entschieden, ob z. B. bei den Vergiftungen mit Vanilleeis es nicht Fälle von Intoxikationen durch verdorbene Eisubstanz gibt. Die genannten Vergiftungen brauchen keineswegs ihre Ursache in der Vanille oder in der verdorbenen Milch zu haben, sondern können auch durch die verdorbenen Eier bedingt sein.[1]) Minderwertige Eier werden besonders häufig im Bäckereibetrieb verendet.[2])

Um nun zu sehen, ob Schimmelpilze von der äufseren Eischale aus in das Innere des Eies vorzudringen vermögen, wurden frische, mit Gelatine überzogene Eier in Reinkulturen von Schimmelpilzen gewälzt und dabei nach fünftägigem Verweilen im Brutschrank folgende Ergebnisse erzielt:

Reinkulturen von:	Inhalt	
	A bei unverletzter Schale	B bei Knickeiern
Mucor corymbifer . . .	keimfrei	infiziert
Aspergillus niger . . .	»	»
Penicillium glaucum . .	»	»
Penicillium brevicaule . .	»	»

Bei A war also der Inhalt stets keimfrei geblieben. Bei B war er fade, muffig riechend, von grauen bzw. schwärzlichen Krümeln durchsetzt. Die Schimmelpilze waren überall an der äufseren Schale auf der Gelatine gewachsen. Von dem Inhalt wurde bei A und B nochmals auf Agar abgeimpft. Diese Impfung war bei A, wo auch für das blofse Auge und den Geruch das Innere gut war, ergebnislos. Bei B wurden wieder Reinkulturen der verwendeten Schimmelpilze erzielt.

1) Vergl. auch Vagedes, Paratyphusbazillen bei einer Mehlspeisenvergiftung (Enteneier). Beiträge zur Typhusforschung. Abdruck aus dem klinischen Jahrbuch. Bd. 14.

2) Borchmann s. o.; Ostertag, Das Veterinärwesen der Vereinigten Staaten von Nordamerika. Berlin 1906.

Hieraus ergibt sich wieder der Schlufs, dafs die geprüften Schimmelpilze die unverletzte Wand des frischen Hühnereies nicht zu durchdringen vermögen. Es ist damit aber nicht gesagt, dafs sich alle Eier wie die untersuchten verhalten müssen, denn die Eischale ist bei verschiedenen Hühnerspezies recht verschieden; noch auch kann ich behaupten, dafs alle Schimmelpilze sich wie diejenigen, die ich zum Experimente wählte, verhalten werden. Zum mindesten genügen die leichtesten Läsionen, um ein Durchwachsen zu ermöglichen.

Die angestellten Versuche ergaben, dafs es zweifellos erwünscht sein mufs, dem internationalen Eierhandel vermehrte Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Ich schliefse damit, Herrn Geheimrat Rubner für die mir gütigst überwiesene Arbeit und sein ständiges reges Interesse an ihr, sowie Herrn Stabsarzt Berghaus für die liebenswürdige Kontrolle meiner Versuche meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Über Bakterienagglutination durch normale Sera.

Von

Dr. med. **Emil Bürgi,**
Professor in Bern.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Die normale Agglutination einer gröfseren Anzahl Bakterien durch verschiedene Tiersera ist niemals systematisch untersucht worden. Man findet in der Literatur allerdings eine beträchtliche Menge von mehr oder minder vereinzelten Angaben über Normalagglutinine, auf die ich später noch genauer eingehen werde, nirgends aber zusammenfassende Untersuchungen. Dr. U. Friedemann, dem ich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für seine vielen wertvollen Ratschläge bei der Ausführung der Versuche meinen herzlichsten Dank ausspreche, machte mich auf diese Lücke in unseren Kenntnissen über das Wesen der Agglutination aufmerksam. Ich habe durch mehrere längere Untersuchungsreihen unser Wissen nach dieser Richtung hin zu ergänzen gesucht und will über die Resultate dieser Experimente um so lieber berichten, als ich glaube, einige nicht unwesentliche neue Tatsachen gefunden zu haben.

Ich habe die normale Agglutinationskraft zehn verschiedener Sera, nämlich der Sera von Meerschweinchen, Mensch, Kaninchen, Hund, Gans, Huhn, Hammel, Ziege, Pferd und Rind untersucht. (Das Meerschweinchenblut entnahm ich der Karotis, das Kaninchenblut der Ohrvene, das Hunde- und Ziegenserum der Jugularis und das Gänseserum anfänglich der Flügelvene des

betreffenden Tieres, später bezog ich das letztere ebenso wie die anderen Blutarten aus dem Schlachthof; das menschliche Blut erhielt ich durch die Güte einiger Assistenten der zweiten medizinischen Klinik Berlins.) Die aus diesen Blutarten nach den üblichen Methoden gewonnenen Sera wurden vor dem Gebrauch in einem auf 56° erwärmten Wasserbade inaktiviert, um die störenden Bakteriolysine zu entfernen. Hier und da verwendete ich allerdings neben dem inaktiven auch aktives Serum und fand die Agglutination durch die Sera in diesen zwei Zuständen jedesmal sehr wenig verschieden. Die in den Tabellen angeführten Resultate wurden aber ausschliefslich mit inaktiviertem Serum gewonnen. Die Sera wurden immer im Eisschrank aufbewahrt, fingen sie an, sich zu trüben, so wurden sie sogleich durch frisches Material ersetzt.

In meinen Versuchsreihen kamen 19 verschiedene Bakterienarten zur Verwendung und zwar jedesmal 4 Agarstrichkulturen (bei Rotz Pferdefleischagarkulturen), die 24 Stunden nach der Überimpfung in 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch Zusatz von 0,4 ccm Formalin getötet, filtriert und im Eisschrank aufbewahrt worden.

Die Agglutination dieser Bakterien wurde in acht verschiedenen Serumkonzentrationen geprüft, nämlich in den Konzentrationen $^1/_1$, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$, $^1/_{64}$ und $^1/_{128}$. Die Sera wurden zu diesem Zwecke mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Auf je 1 ccm dieser Serumlösungen kam 1 ccm Bakterienaufschwemmung. Die Flüssigkeiten wurden gut durchgeschüttelt, 2 Stunden in den Brutschrank gestellt, dann einige Stunden (meist den ganzen Nachmittag) bei Zimmertemperatur gehalten und nachts im Eisschrank aufbewahrt. Am nächsten Morgen wurde die Agglutination, die schon vorher von Zeit zu Zeit beobachtet worden war, genau festgestellt und notiert. Diese Aufzeichnungen, die man in den Tabellen wiedergegeben findet, benutzte ich zu meinen vergleichenden Betrachtungen. Nur die wenigsten Bakterien waren schon nach 2stündigem Stehen im Brutschrank agglutiniert, bei dem von mir gewählten Zeitpunkt der Untersuchung dagegen alle ohne Ausnahme, so dafs er für die Beurteilung der verschiedenen Agglutinationen jedenfalls richtig gewählt

schien. Ich habe, wie üblich, drei Grade der Agglutination, die ich nur makroskopisch untersuchte, unterschieden, der stärkste Grad (Ausfällen der Bakterien in kompakten Klümpchen, absolute Klärung der Suspensionsflüssigkeit) wurde in den Tabellen mit ×, der zweitstärkste (Ausfallen der Bakterien in weniger kompakten Massen, absolute Klärung der Flüssigkeit) mit = und der schwächste Grad (geringe Fällung der Bakterien, keine vollständige Klärung) mit + bezeichnet. Aus dieser Einteilung geht hervor, dafs der erste und zweite Grad als ziemlich gleichwertig zu betrachten sind. Der dritte, niedrigste Agglutinationsgrad war der einzige, der hier und da mit einfachen Sedimentierungen hätte verwechselt werden können, doch wurde die übliche Prüfung auf Sedimentierung nie versäumt[1]) und das Ansetzen verschiedener Kontrollproben, die vor wesentlichen Fehlern schützten, niemals unterlassen.

Ich untersuchte in einer ersten Reihe die Wirkung der zehn oben angegebenen Sera auf den Choleravibrio, den Vibrio Metschnikoff, auf drei verschiedene Dysenteriestämme (in den Tabellen als Dysenterie A, B und M bezeichnet), auf den Bac. des Typhus abd., des Paratyphus B, auf Koli, Mäusetyphus, Schweinepest, Hühnercholera, Proteus, Pyocyaneus und Staphylococcus aureus, und lasse hier die Resultate dieser ersten Serie folgen:

Versuchsreihe I. 1. Cholera.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	+	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	+	—	—	—	—	—	—	—
Hund	+	+	+	—	—	—	—	—
Gans	+	+	—	—	—	—	—	—
Huhn	+	+	—	—	—	—	—	—
Hammel	=	+	—	—	—	—	—	—
Ziege	×	×	×	—	—	—	—	—
Pferd	×	×	×	=	—	—	—	—
Rind	×	×	×	=	—	—	—	—

1) Vgl. die Angaben von Kolle und Otto in ihrer Publikation: ›Die Differenzierung der Staphylokokken mittels der Agglutination. Zeitschrift f. Hygiene, 41, 369.

2. Vibrio Metschnikoff.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen	?	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	?	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	+	+	—	—	—	—	—	—
Hund	+	—	—	—	—	—	—	—
Gans	+	+	+	—	—	—	—	—
Huhn	nicht untersucht.							
Hammel	nicht untersucht.							
Ziege	×	×	=	+	—	—	—	—
Pferd	×	=	+	?	—	—	—	—
Rind	×	=	+	+	+	+	—	—

3. Dysenterie.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen	=	=	+	—	—	—	—	—
Mensch	+	+	=	+	+	+	—	—
Kaninchen	—	—	+	+	=	=	+	+
Hund	=	+	—	—	—	—	—	—
Gans	—	—	—	—	+	=	+	—
Huhn	nicht untersucht.							
Hammel	nicht untersucht.							
Ziege	+	+	+	+	=	=	×	=
Pferd	—	—	—	—	+	+	=	+
Rind	—	+	+	+	=	=	=	×

4. Dysenterie B.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen	+	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	+	+	=	=	×	+	—
Kaninchen	—	—	—	+	+	=	=	×
Hund	—	—	—	—	+	+	=	×
Gans	—	—	—	+	×	×	=	×
Huhn	—	—	—	+	×	×	=	=
Hammel	—	—	+	+	=	=	×	+
Ziege	—	—	—	+	+	×	×	=
Pferd	—	—	+	+	=	=	×	×
Rind	—	—	+	+	=	=	×	×

5. Dysenterie M.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen	—	—	—	=	+	+	—	—
Mensch	+	+	+	=	=	=	=	=
Kaninchen	—	—	+	+	—	—	—	—
Hund	=	—	+	=	=	+	+	+
Gans	—	+	+	=	×	×	=	=
Huhn	—	—	—	+	×	×	=	=
Hammel	+	=	=	×	×	×	×	=
Ziege	+	+	+	+	=	×	×	×
Pferd	—	+	+	+	=	×	×	×
Rind	—	—	+	+	+	=	=	=

6. Typhus abd

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	+	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	+	?	—	—	—	—	—	—
Hund	+	+	+	—	—	—	—	—
Gans	×	×	=	+	—	—	—	—
Huhn	nicht untersucht.							
Hammel	nicht untersucht.							
Ziege	=	=	+	+	—	—	—	—
Pferd	×	×	=	+	+	+	+	—
Rind	×	×	×	×	+	+	—	—

7. Paratyphus B.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	+?	—	—	—	—	—	—	—
Hund	+?	—	—	—	—	—	—	—
Gans	—	—	—	—	—	—	—	—
Huhn	—	—	—	—	—	—	—	—
Hammel	+	—	—	—	—	—	—	—
Ziege	=	=	—	—	—	—	—	—
Pferd	×	×	—	—	—	—	—	—
Rind	=	+	—	—	—	—	—	—

8. Koli.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	+	+	−	−	−	−	−	−
Mensch	+	+	−	−	−	−	−	−
Kaninchen	+	−	−	−	−	−	−	−
Hund	×	=	=	=	−	−	−	−
Gans	×	=	=	+	+	−	−	−
Huhn	×	−	+	+	−	−	−	−
Hammel	×	×	×	×	×	×	=	+
Ziege	×	×	×	×	×	×	×	=
Pferd	×	×	×	×	×	×	×	=
Rind	×	×	×	×	×	×	×	=

9 Mäusetyphus.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	+?	−	−	−	−	−	−	−
Mensch	=	=	+	−	−	−	−	−
Kaninchen	−	−	−	−	−	−	−	−
Hund	+	+	−	−	−	−	−	−
Gans	=	+	−	−	−	−	−	−
Huhn	=	+	+	−	−	−	−	−
Hammel	×	=	=	=	=	−	−	−
Ziege	×	×	×	=	+	−	−	−
Pferd	×	×	×	=	−	−	−	−
Rind	×	×	×	=	=	−	−	−

10. Schweinepest.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	−	−	−	−	−	−	−	−
Mensch	−	−	−	−	−	−	−	−
Kaninchen	−	−	−	−	−	−	−	−
Hund	−	×	×	=	=	−	−	−
Gans	−	−	−	−	−	−	+?	+?
Huhn	−	−	−	−	−	−	−	−
Hammel	×	×	×	×	×	=	+	−
Ziege	×	×	×	×	×	=	+	−
Rferd	×	×	×	=	+	−	−	−
Rind	×	×	×	×	=	−	−	−

11. Hühnercholera.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	–	–	–	–	–	–	–	–
Mensch	+	–	–	–	–	–	–	–
Kaninchen	–	–	–	–	–	–	–	–
Hund	+	+	+	+	–	–	–	–
Gans	+	–	–	–	–	–	–	–
Huhn	+	–	–	–	–	–	–	–
Hammel	+	+	–	–	–	–	–	–
Ziege	=	=	×	+	–	–	–	–
Pferd	×	×	+	–	–	–	–	–
Rind	×	×	+	–	–	–	–	–

12. Proteus.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	–	–	–	–	–	–	–	–
Mensch	+	?	–	–	–	–	–	–
Kaninchen	+	+	–	–	–	–	–	–
Hund	×	×	×	–	–	–	–	–
Gans	×	×	=	=	+	–	–	–
Huhn	×	×	×	=	=	=	–	–
Hammel	×	×	×	×	+	–	–	–
Ziege	×	×	×	×	=	+	–	–
Pferd	×	×	=	=	+	–	–	–
Rind	×	×	×	=	=	+	–	–

13. Pyocyaneus.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	+?	–	–	–	–	–	–	–
Mensch	+	+?	+?	–	–	–	–	–
Kaninchen	+?	+?	–	–	–	–	–	–
Hund	=	+?	–	–	–	–	–	–
Gans	×	×	+	–	–	–	–	–
Huhn	×	=	=	=	–	–	–	–
Hammel	×	×	=	+	–	–	–	–
Ziege	×	×	×	×	=	+	–	–
Pferd	×	×	×	×	=	=	–	–
Rind	=?	×	×	×	×	=	=	+

14. Staphylococcus aureus.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Hund	—	+	—	—	—	—	—	—
Gans	—	+	+	+	—	—	—	—
Huhn	—	—	+	+	—	—	—	—
Hammel	×	×	×		—	—	—	—
Ziege	×	×	×	—	—	—	—	—
Pferd	—	—	+	—	×	—	—	—
Rind	—	—	+	—	×	—	—	—

Schon in dieser ersten Versuchsreihe trat die später eingehend zu besprechende Gesetzmäfsigkeit deutlich zutage. Für jedes Bakterium waren es immer die gleichen Sera, welche stark, die gleichen, welche mittelstark und die gleichen, welche nur wenig oder gar nicht agglutinierten. Als ganz besonders wirksam erwiesen sich jedesmal die Sera von Pferd und Rind; am nächsten standen ihnen die von Ziege und Hammel. Bei einer genaueren Durchsicht der Resultate zeigte es sich dann sogar, dafs sich die Sera ihrer Agglutinationsfähigkeit nach in eine Reihe gliedern lassen, die für sämtliche von mir untersuchten Bakterienarten immer annähernd dieselbe blieb. Am stärksten agglutinierte das Rinderserum, dann folgten, nach absteigendem Agglutinationsvermögen geordnet, die Sera von Pferd, Ziege, Hammel, Huhn, Gans, Hund, Kaninchen, Mensch und Meerschweinchen. Diese Tatsache schien so überraschend und interessant, dafs es mir zunächst wichtig war, durch Nachprüfungen festzustellen, ob die wenigen Abweichungen von dieser Regel auf Zufälligkeiten zurückzuführen oder als wirkliche Ausnahmen zu betrachten seien. Leider war das mir zur Verfügung stehende Material in dem Moment nicht reichlich genug, um alle notwendigen Nachprüfungen ohne Ausnahme vornehmen zu können, doch genügte es, um wenigstens die gröfste Zahl der Abweichungen aufzuklären. Ich lasse hier vorderhand die Ergebnisse dieser Nachuntersuchungen folgen:

Nachprüfungen.

1. Cholera.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Hund	+	+	+	—	—	—	—	—
Gans	=	+	+	—	—	—	—	—
Huhn	+	+	+	+	—	—	—	—
Hammel (altes Serum)	—	—	+	—	—	—	—	—
Hammel (neues Serum)	×	×	+	—	—	—	—	—

2. Vibrio Metschnikoff.

Kaninchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Hund	—	+	—	—	—	—	—	—

3. Dysenterie.

Huhn	—	—	—	+	+	×	×	+
Hammel	—	×	×	×	×	×	—	+

4. Dysenterie B.

Hund	—	+	—	+	+	=	=	+
Gans	—	—	—	+	—	×	×	×
Ziege	—	×	×	×	×	×	×	+
Pferd	—	—	+	+	—	×	×	×
Rind	—	—	+	+	—	=	×	×

5. Dysenterie M.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
Meerschweinchen	—	—	—	—	—	—	—?	—?	Sediment?
Hund	—	—	—?	—	—?	—	—	—	— ?
Hammel	—	+	+	—	×	×	—		
Ziege	—	+	+	—	×	×	×	—	
Pferd	—	—	—	—	+	—	—	×	

6. Typhus abdominalis.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Gans	×	×	×	—	—	—	—	—
Huhn (fault)	×	—	—	+	—	—	—	—
Hammel (altes Serum)	×	×	×	+	—	—	—	—
Hammel (neues Serum)	×	×	×	×	+	—	—	—
Pferd	×	×	×	×	=	+	—	—
Pferd u. Meerschweinchen	×	×	×	=	+	—	—	—

7. Paratyphus B.

Gans	×	×	×	+	+	+	—	—
Huhn	×	=	=	+	+	—	—	—
Hammel	×	×	×	—	+	—	—	—
Pferd	×	×	×	—	+?	—	—	—
Rind	×	×	×	×	+?	—	—	—

8. Mäusetyphus.

Meerschweinchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Hund	—	—	—	—	—	—	—	—
Huhn	—	—	—	—	—	—	—	—

9. Schweinepest.

Hund	+	+	+	+	+	+	—	—
Gans	—	=	—	+	—	—	—	—
Huhn	×	×	=	+	—	—	—	—
Hammel	×	—	=	=	=	+	+	—?
Pferd	×	×	×	×	×	=	+	—
Rind (frisches Serum)	×	×	×	×	×	×	=	+?
Rind (altes Serum)	×	×	×	×	+?	+	—	—

10. Proteus.

Pferd	×	×	×	×	—	+	—	—
Rind	×	×	×	×	×	+	+	—?

Weitere Nachprüfungen.

11. Vibrio Metschnikoff.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Gans	+	+	+?	—	—	—	—	—
Huhn	+	+?	—	—	—	—	—	—
Hammel	=	+	-	—	—	—	—	—
Pferd	×	+?	+?	+	—	—	—	—

12. Typhus abdominalis.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Huhn (frisch)	—	—	+	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	×	=	+	—	—	—
Pferd	×	×	×	—	+	—	—	—
Pferd (neues Serum)	×	×	×	×		—	—	—

Der Choleravibrio war in meiner ersten Versuchsreihe von Gänse- und Hühnerserum sowie auch von Hammelserum relativ wenig agglutiniert worden. Gänse- und Hühnerserum agglutinierten sogar etwas weniger als Hundeserum. Durch die Nachprüfungen wurde die richtige Reihenfolge hergestellt. Kaninchenserum hatte in der Versuchsreihe I den Vibrio Metschnikoff in den drei ersten Verdünnungen agglutiniert, Hundeserum nur in den zwei ersten, bei der zweiten Untersuchung war das Verhältnis dieser beiden Sera umgekehrt. Huhn- und Hammelserum hatte ich das erste Mal in ihrer Wirkung auf den Dysenteriestamm A gar nicht geprüft, die Nachprüfung dieser zwei Sera reihte sie ganz nach der oben angeführten Regel ein. Das Hundeserum, das für diesen Bazillus ein etwas abweichendes Verhalten gezeigt hatte, konnte ich leider im Moment nicht nocheinmal verwenden. Da bei Dysenterie B keine nennenswerten Abweichungen von dem Gesetz vorgekommen waren, konnten die Nachuntersuchungen hier nur die Richtigkeit der ersten Reihe bestätigen. Bei Dysenterie M. hatte das Kaninchenserum ein etwas unregelmäfsiges Verhalten gezeigt, ich konnte die Untersuchung des Serums momentan nicht wiederholen, doch zeigte die Nachprüfung von Meerschweinchen- und Hundeserum, dafs in der ersten Reihe offenbar Sedimentierungen mit Aggluti-

nationen verwechselt worden waren. Die agglutinierende Wirkung von Hammel- und Huhnserum auf Typhus abdominalis war in der ersten Serie noch nicht untersucht worden; sie erfolgte bei den Nachuntersuchungen dem genannten Gesetze gemäfs. Huhnserum agglutinierte allerdings etwas weniger als Gänseserum, auch als ich das schon etwas trübe Huhnserum durch frisches ersetzt hatte. (Im allgemeinen war nämlich das etwas unregelmäfsige Verhalten dieser beiden Sera, die mir gewöhnlich vom Markt geliefert wurden, durch ihre Neigung, leicht in Fäulnis überzugehen, zu erklären.) Bei der zweiten Untersuchung der Agglutination des Typhusbazillus liefs ich das eine Mal frisches, das andere Mal altes Pferde- und Hammelserum einwirken. Das frische (ebenfalls inaktivierte) Serum agglutinierte jedesmal etwas stärker. Diese Tatsache konnte ich auch bei Cholera für Hammelserum und bei Schweinepest für Rinderserum konstatieren. Paratyphus B wurde im ganzen wenig agglutiniert, bei der einen Versuchsreihe agglutinierten nur die Sera von Hammel, Ziege, Pferd und Rind, bei der anderen auch die von Gans und Huhn. Bacillus coli und der Bacillus des Mäusetyphus verhielten sich im allgemeinen der Regel gemäfs, sie wurden nur in der ersten Versuchsreihe durch menschliches Serum etwas stärker als anzunehmen war, gefällt, doch war die Abweichung vom Gesetz eine relativ geringe. Eine Nachprüfung konnte nicht vorgenommen werden, da ich kein menschliches Serum mehr zur Verfügung hatte. Bei dem Bazillus der Schweinepest wurde das zuerst beobachtete, etwas aus der Reihe fallende Verhalten der Sera von Hund, Gans und Huhn durch die erneuerte Untersuchung einigermafsen korrigiert.

Über die Agglutination der anderen Bakterien (Hühnercholera, Proteus, Pyocyaneus, Staphylokokkus) ist nichts beizufügen, sie verlief mit ganz minimalen Schwankungen, der angeführten Regel entsprechend.

Bei einigen Agglutinationsreihen wurde die eigentümliche Erscheinung der Hemmung in starken Serumkonzentrationen beobachtet, in geringem Grade bei B. pyocyaneus und bei Staphylococcus aureus, in hohem, ja sogar in aufsergewöhn-

lich starkem Mafse bei den verschiedenen Dysenteriestämmen, namentlich bei Dysenterie A und B — weniger bei Dysenterie M. Es ist klar, dafs Hemmung in starken Konzentrationen bei Agglutination in geringeren Konzentrationen mit dem gewöhnlichen Ausbleiben der Fällung nicht identifiziert werden kann, sie könnte eher als Agglutination in ihrer höchsten Potenz bezeichnet werden, obwohl das auch nicht ganz richtig wäre. Bekanntlich treffen wir Hemmungszonen auch beim Ausfällen kolloidaler Stoffe. Erklärt ist die Erscheinung bei der Agglutination durchaus noch nicht genügend, doch hat es keinen Zweck, hier auf die Frage näher einzugehen, da meine Arbeit über diesen Punkt keine neuen Tatsachen gebracht hat; ich möchte an der Stelle nur ausdrücklich betonen, dafs Hemmung eher auf ein Plus als auf ein Minus von Agglutinin schliefsen läfst. Gerade deshalb aber konnte man glauben, die Sera, die, wie z. B. Meerschweinchenserum, wenig agglutinierten, enthielten nicht zu wenig agglutinierende Substanz, sondern das Ausbleiben der Agglutination sei auch hier durch aufsergewöhnlich starke Hemmungen bedingt, die noch in grofsen Verdünnungen die Fällung der Bakterien verhinderten. Diese Frage liefs sich auf zwei verschiedenen Wegen lösen. Man konnte die normale Agglutination durch ein Serum mit schwachem Agglutinationsvermögen in noch gröfseren Verdünnungen prüfen oder sehen, ob ein Zusatz von einem wenig wirksamen Serum zu einem hochagglutinierenden die Agglutinationskraft des letzteren stärker herabsetzt als ein entsprechender Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung. Ich wählte den zweiten Weg und prüfte den Einflufs einer Mischung von Pferde- und Meerschweinchenserum auf den Typhusbazillus. Der Zusatz des wenig wirksamen Meerschweinchenserums zu dem stark agglutinierenden Pferdeserum wirkte aber nur im Sinne einer Verdünnung mit einer indifferenten Flüssigkeit, das geringe Fällungsvermögen des Meerschweinchenserums beruht also nicht auf hemmenden Eigenschaften sondern auf einem Mangel an Agglutinin.

Die Nachprüfungen hatten also die meisten — allerdings nicht alle — Abweichungen von dem aus der ersten Versuchs-

reihe hervorgegangenen Gesetz als auf Versuchsfehler verschiedener Art zurückzuführende Zufälligkeiten aufgeklärt und damit auch aufgehoben. Immerhin schien es doch angezeigt, die gewonnenen Resultate durch eine weitere Versuchsreihe zu erhärten, und es schien möglich, eine noch gröſsere Übereinstimmung der Ergebnisse zu erzielen, wenn man die ganze Serie mit möglichst frischen und gleichartigen Sera vornehmen konnte. Ich hatte durch meine Nachuntersuchungen festgestellt, daſs die Sera, wie übrigens zu erwarten war, im Laufe einiger Wochen, auch ohne daſs sie faulten, an Wirksamkeit einbüſsten, ferner war anzunehmen, daſs, da das Serummaterial während der Untersuchungsreihe ab und zu teilweise hatte erneuert werden müssen, individuelle Verschiedenheiten störend gewirkt hatten.[1]) Um beide Fehlerquellen zu vermeiden, muſste ich erstens von Anfang an von jedem Tiere ein Quantum Serum besitzen, das für die ganze Versuchsreihe ausreichte. Bei den groſsen Tieren war das leicht zu erreichen, bei den kleinen Tieren — Meerschweinchen und Kaninchen —, die sehr wenig Blut liefern, wurde das Serum mehreren Tieren entnommen und gemischt. Das Quantum Meerschweinchenserum, das ich so erhielt, reichte leider, da ich das nötige Tiermaterial nicht gleich zur Hand hatte, doch nicht völlig aus, auch das Kaninchenserum muſste einmal gewechselt werden, da ich aus Versehen ein Tier verwendet hatte, das früher gegen Typhus abdominalis immunisiert worden war. Andere Störungen kamen in dieser zweiten Versuchsreihe nicht vor, und da es mir gelang, mit den 10 Sera 13 verschiedene Bakterienarten in ca. 8 Tagen zu untersuchen, wurde auch die zweite Fehlerquelle — das Schwächerwerden der Sera bei längerem Stehen — vermieden. Ich untersuchte die Bakterien der Cholera, des Vibrio Metschnikoff, des Typhus abdominalis, Paratyphus B, Koli, Proteus, Staphylococcus aureus und Pyocyaneus nochmals, ferner zwei andere Dysenteriestämme (Flexner und Shiga), Paratyphus A, Rotz und Alkaligenes.

1) Ich verweise hier auf die mir bei der Ausführung dieser Arbeit noch nicht bekannte, aus dem Neisserschen Laboratorium hervorgegangene Dissertation von Müller, die später noch Erwähnung finden wird.

Die Versuchsanordnung war sonst die gleiche. Die Resultate waren die folgenden:

Versuchsreihe II.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Cholera.								
Meerschweinchen	+	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	+	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	+	—	—	—	—	—	—	—
Hund	+	—	—	—	—	—	—	—
Gans	+	+	+	+	—	—	—	—
Huhn	+	+	+	—	—	—	—	—
Hammel	×	—	=	—	—	—	—	—
Ziege	×	×	×	×	=	—	—	—
Pferd	×	×	×	=	+	+		—
Rind	×	×	×	×	=	+	—	—
Vibrio Metschnikoff.								
Meerschweinchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	+?	—	—	—	—	—	—	—
Hund	+	+	—	—	—	—	—	—
Gans	+	—	—	—	—	—	—	—
Huhn	+	—	—	—	—	—	—	—
Hammel	=	+	—	—	—	—	—	—
Ziege	×	×	×	+	—	—	—	—
Pferd	×	×	×	+	+	—	—	—
Rind	×	×	×	+	+	—	—	—
Typhus abdominalis.								
Meerschweinchen	=	+	+	—	—	—	—	—
Mensch	=	+	+	—	—	—	—	—
Kaninchen	×	=	+	—	—	—	—	—
Hund	×	×	—	—	—	—	—	—
Gans	×	×	×	—	—	—	—	—
Huhn	×	×	—	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	×	×	×	—	—	—
Ziege	×	×	×	×	×	—	—	—
Pferd	×	×	×	×	=	+	—	—
Rind	×	×	×	×	×	=	—	—

Paratyphus A.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	+?	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	+	—	—	—	—	—	—	—
Hund	+	+	+	—	—	—	—	—
Gans	=	+	+	—	—	—	—	—
Huhn	=	+	+	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	×	×	×	×	×	—
Ziege	×	×	×	×	—	—	—	—
Pferd	×	×	×	=	+	—	—	—
Rind	×	×	×	=	+	—	—	—

Paratyphus B.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	—	—	—	—	—	—	—	—
Hund	—	—	—	—	—	—	—	—
Gans	—	—	—	—	—	—	—	—
Huhn	—	—	—	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	×	+	—	—	—	—
Ziege	×	×	×	+	—	—	—	—
Pferd	×	×	=	=	—	—	—	—
Rind	×	×	×	=	—	—	—	—

Koli.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	+	+	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	=	=	+	—	—	—	—	—
Hund	+	+	—	—	—	—	—	—
Gans	+	+	—	+	—	—	—	—
Huhn	+	+		+	—	—	—	—
Hammel	=	—	×	×	—	—	—	—
Ziege	+	=	×	×	×	×	=	+
Pferd	=	×	×	×	×	×	×	+
Rind	+	+	+	×	×	×	×	=

Dysenterie Shiga.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	×	=	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	×	=	—	—	—	—	—	—
Hund	×	×	×	+	—	—	—	—
Gans	×	×	×	×	=	—	—	—
Huhn	×	×	×	=	—	—	—	—
Hammel	=	×	×	—	+	—	—	—
Ziege	×	×	×	×	+	—	—	—
Pferd	×	×	×	=	+	—	—	—
Rind	×	×	×	×	=	+	—	—

Dysenterie Flexner.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	×	×	×	—	—	—	—	—
Mensch	×	×	×	—	—	—	—	—
Kaninchen	×	×	×	×	=	—	—	—
Hund	×	×	×	=	—	—	—	—
Gans	=	×	×	×	×	=	—	—
Huhn	—	×	×	×	×	=	—	—
Hammel	×	×	×	×	×	×	=	—
Ziege	—	×	×	×	×	×	×	×
Pferd	—	×	×	×	×	×	×	×
Rind	=	=	×	×	×	×	×	×

Rotz.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	×	=	—	—	—	—	—	—
Hund	=	—	—	—	—	—	—	—
Gans	=	+	+	—	—	—	—	—
Huhn	=	+	+	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	=	=	—	—	—	—
Ziege	×	×	×	×	—	—	—	—
Pferd	×	×	×	—	—	+	—	—
Rind	×	×	×	×	=	+	—	—

Proteus.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	×	×	=	—	—	—	—	—
Kaninchen	+	+	—	—	—	—	—	—
Hund	×	×	×	×	—	—	—	—
Gans	×	—	+	—	—	—	—	—
Huhn	=	+	+	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	×	×	—	—	—	—
Ziege	×	×	×	×	+	—	—	—
Pferd	×	×	×	×	×	+	—	—
Rind	×	×	×	×	×	×	—	—

Alcaligenes.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	—	—	?	—	—	—	—	—
Kaninchen	×	×	+	—	—	—	—	—
Hund	×	=	+	—	—	—	—	—
Gans	×	=	+	—	—	—	—	—
Huhn	×	=	+	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	×	×	?	—	—	—
Ziege	×	×	×	×	?	—	—	—
Pferd	×	×	×	=	=	—	—	—
Rind	×	×	×	×	×	×	—	—

Staphylococcus.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	=	—	—	—	—	—
Mensch	+?	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	=	—	—	+	—	—	—	—
Hund	—	+?	=	—	—	—	—	—
Gans	=	=	+	+	+	—	—	—
Huhn	—	=	=	+	+	—	—	—
Hammel	=	=	×	=	=	=	—	—
Ziege	=	=	=	×	=	=	—	—
Pferd	—	=	=	×	×	×	=	—
Rind	—	=	=	×	×	×	=	=

Pyocyaneus.

Verdünnungen	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Meerschweinchen . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Mensch	=	?	—	—	—	—	—	—
Kaninchen	×	×	—	—	—	—	—	—
Hund	=	=	+	—	—	—	—	—
Gans	×	×	+	+	—	—	—	—
Huhn	=	+	—	—	—	—	—	—
Hammel	×	×	×	+	+	—	—	—
Ziege	×	×	×	×	×	×	—	—
Pferd	×	×	×	×	×	×	—	—
Rind	×	×	×	×	×	×	—	—

Wie ich gehofft hatte, haben sich die Abweichungen von dem schon in der ersten Serie deutlich zutage getretenen Gesetz in dieser zweiten Untersuchungsreihe, in der teils wegen der durch gröſsere Übung erzielten Sicherheit im Arbeiten, teils durch Vermeiden der genannten Fehlerquellen regelmäſsigere Versuchsbedingungen geschaffen waren, bedeutend vermindert, gänzlich beseitigt wurden sie allerdings nicht, und bei der Untersuchung von biologischen Vorgängen ist das auch nicht zu erwarten.

Die neu untersuchten Bakterien (Dysenterie Shiga und Flexner, Paratyphus A, Rotz und Alkaligenes) wurden in der nämlichen Stärkereihenfolge von den verschiedenen Sera agglutiniert wie die anderen früher schon untersuchten Bakterien.

Im übrigen wurden die Resultate der ersten Reihe im allgemeinen bestätigt. Vibrio Cholera wurde etwas stärker von Gänseserum agglutiniert als von Hühnerserum, Vibrio Metschnikoff etwas mehr von Hundeserum als von Gänseserum, im gleichen Sinne waren bei

Dysent. Flexner das Verhältnis von Kaninchen = zu Hundeserum,

bei Typhus abd. das Verhältnis von Gänse = zu Hühnerserum,

bei Paratyphus A das Verhältnis vom Hammel = zu Ziegen-, Pferde- und Rinderserum,

bei Koli das Verhältnis von Kaninchen = zu Menschenserum,

bei Proteus das Verhältnis von Menschen = zu Kaninchenserum,

und das Verhältnis von Hunde = zu Gänse- und Hühnerserum

verschoben.

Die Abweichungen von der Regel zeigten sich also immer nur bei den Sera, deren Agglutinations-Titer ohnehin nicht stark voneinander abwichen. Es kam z. B. nie vor, dafs Meerschweinchen etwa ausnahmsweise mehr agglutiniert als Gans und Huhn oder gar als Rind und Pferd. Den einzigen gröfseren, aber wie sich später herausstellte, nur scheinbaren Ausnahmen begegnete ich, als ich den Typhusbazillus untersuchte und dabei konstatierte, dafs das Kaninchenserum mehr als irgendein anderes Serum agglutiniert hatte. Es erwies sich dann aber mit Sicherheit, dafs, wie oben angeführt, aus Versehen das Blut eines früher gegen Typhus immunisierten Kaninchens verwendet worden war.[1]) Ich habe dieses Ergebnis daher mit Recht aus der Versuchsreihe ausgeschaltet und den Versuch mit dem Serum eines nicht immunisierten Tieres wiederholt, das zu erwartende Resultat erhalten und dieses in die Tabelle eingetragen.

Die Erscheinung der Hemmung wurde in geringem Grade bei Bac. Coli, bei Staphylococcus aureus und bei Dysenterie Flexner beobachtet. So aufserordentlich starke Hemmungszonen, wie bei den ersten von mir untersuchten Dysenteriestämmen fanden sich nicht wieder.

Es steht also fest, dafs die 10 von mir untersuchten Sera ihrer normalen Agglutinationsfähigkeit nach in eine Reihenfolge geordnet werden können, die für alle 19 verwendeten Bakterienarten die gleiche ist. Am stärksten agglutiniert jedesmal Rinderserum, dann folgen, nach absteigender Wirkung geordnet, Pferde-,

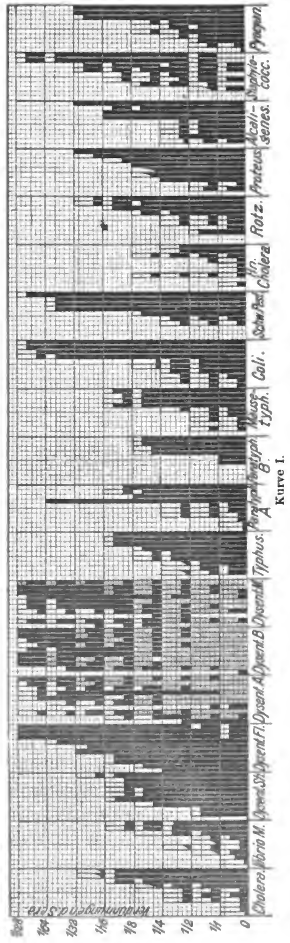
---

1) Dieses Serum agglutinierte gleichzeitig auch Koli ziemlich stark, bekanntlich wird die Frage, ob Typhusimmunserum auch die Kolibazillen regelmäfsig agglutiniert, noch diskutiert.

Ziegen-, Hammel-, Hühner-, Gänse-, Hunde-, Kaninchen-, Menschen- und Meerschweinchenserum. Die einen Bakterienarten werden leicht, die andern weniger leicht agglutiniert, aber die Reihenfolge der Sera bleibt immer die gleiche. Bei der relativ grofsen Zahl der Sera und Bakterien, die zur Untersuchung gelangten, dürfte es wohl berechtigt sein, dieses Gesetz vorläufig auch auf alle übrigen Sera und Bakterienarten auszudehnen.

Im weiteren folgt aus meinen Ergebnissen, dafs sich die untersuchten Sera ihrem Agglutinationsvermögen nach in einzelne Gruppen einteilen lassen. Die Agglutinationstiter von Meerschweinchen und Kaninchen, von Gans und Huhn, sowie von Hammel, Ziege, Pferd und Rind liegen einander immer sehr nahe, und die Unterschiede in der Agglutinationskraft der einzelnen Gruppenglieder sind viel geringer als die Unterschiede, die man zwischen den verschiedenen Gruppen wahrnehmen kann. Verwandte Tiere haben also ein ähnliches Agglutinationsvermögen. Das Verhalten von Menschen- und von Hundeserum läfst sich natürlich für diese Betrachtungen, die zu einer Ausdehnung meiner Versuche auf andere Tierspezies anregen, vorderhand nicht verwerten. Ob die Art der Nahrung bei der Entwicklung der Normalagglutinine eine Rolle spielt, oder ob die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Tierklasse ein ähnliches Verhalten auch in dieser Hinsicht bedingt, das sind einige Fragen, die noch zu entscheiden wären.

Ich habe die Ergebnisse der ersten und der zweiten Versuchsreihe sowie der Nachprüfungen, so gut es bei dem nicht vollkommen gleichartigen Material ging, zusammengezogen und in den nachfolgenden graphischen Darstellungen anschaulich wiederzugeben gesucht. Diese Kurven können natürlich, da die einzelnen Werte in den verschiedenen Untersuchungsserien nicht genau übereinstimmen, wenn auch das allgemeine Resultat dasselbe ist, und da Mittelwerte wegen der drei verschiedenen Grade der Agglutination, die nicht in einem rein mathematischen Verhältnisse zueinander stehen, nicht durch einfache Addition und Division erhalten werden können, nicht als eine absolut genaue Wiedergabe meiner Resultate angesehen



Kurve I.

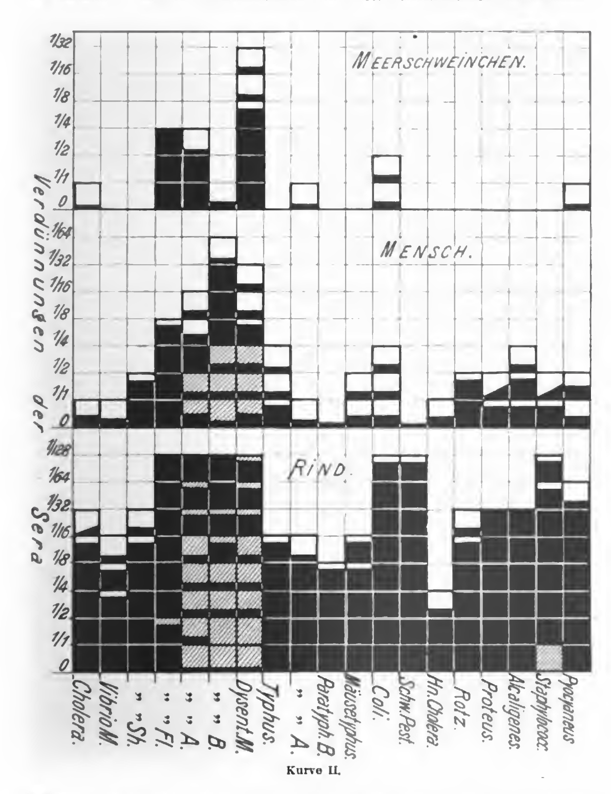
werden. In dieser Hinsicht sind die direkten Versuchsergebnisse natürlich vorzuziehen, wohl aber gewähren diese Darstellungen einen raschen Überblick über die hauptsächlichsten Ergebnisse meiner Arbeit und eine klarere Auffassung der Hauptpunkte.

Die verschiedenen Verdünnungen der Sera sind in der Ordinate verzeichnet. Die Agglutination ist in Form eines Rechteckes angegeben, die drei Grade der Agglutination, die in den Tabellen mit +, = und × bezeichnet sind, werden durch Drittel-, Halb- und Ganzschattierung dieser rechteckigen Felder die Hemmungszonen durch einen helleren Farbenton dargestellt.

Auf Tafel I, die eine Wiedergabe meiner sämtlichen Resultate enthält, sind die Agglutinationen der 19 von mir untersuchten Bakterienarten durch die 10 Sera hintereinander geordnet. Die Reihenfolge der Sera ist oben angegeben[1]), sie ist für jedes Bakterium dieselbe. Alles andere ist ohne weiteres aus der Kurve ersichtlich.

1) Sie entspricht der Reihenfolge in den Tabellen vom Meerschweinchen aufsteigend zu Rind.

In der zweiten Kurve sind die für Meerschweinchen-, für Menschen- und für Rinderserum mit den 19 Bakterien erhaltenen



Kurve II.

Werte untereinander geordnet. Die Resultate, die ich mit den übrigen Sera erhielt, habe ich hier nicht wiedergegeben, da ich glaube, dafs dieser kleine Auszug aus meinen Ergebnissen in

Verbindung mit der ersten Kurve, die eine anschauliche Darstellung aller Resultate bildet, genügen dürfte, um das von mir gefundene Gesetz der Normalagglutination klar zu erkennen. Die Kurve II ist im übrigen ähnlich hergestellt wie die erste Kurve und bedarf keiner weiteren Erläuterung.

Aus beiden Kurven geht mit aller wünschenswerten Deutlichkeit hervor, dafs es sich wirklich um ein Gesetz handelt, das nur wenige Ausnahmen hat. Hätte ich für diese graphischen Darstellungen lediglich die zweite, von Versuchsfehlern freiere Untersuchungsreihe benutzt, so wären die Abweichungen von der Regel noch unbedeutendere gewesen, und es unterliegt für mich keinem Zweifel, dafs sie bei noch weiter fortgesetzten Experimenten beinahe völlig verschwinden würden.

Wie ich schon in der Einleitung kurz bemerkt habe, ist eine solche systematische Untersuchung der Normalagglutination verschiedener Bakterien durch die gleiche Reihe von Tiersera noch niemals vorgenommen worden, dagegen findet sich in der Literatur eine grofse Anzahl vereinzelter Angaben, deren hauptsächlichste Resultate in Paltaufs bekannter Monographie über die Agglutination[1]) zusammengefafst sind. Die meisten Arbeiten auf diesem Gebiete sind von ganz anderen Gesichtspunkten aus unternommen worden und ihre Ergebnisse lassen sich schon aus diesem Grunde nicht recht mit den meinen vergleichen, so hauptsächlich die Arbeit von Löwit und Schwarz[2]), aber auch die später genau anzuführenden Arbeiten von Goldberg sowie von Posselt und v. Sagasser. Aber auch wenn man die dadurch bedingten Unterschiede in Abrechnung bringt, befinden sich meine Resultate mit den von anderen Autoren erhaltenen zum Teil in direktem Widerspruch. So lassen sich die Befunde, die Gengou[3]) über die Agglutination des Milzbrandbazillus durch verschiedene Normalsera angibt, mit den von mir

1) Paltauf, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Kolle und Wassermann) IV, 645 ff.

2) Löwit und Schwarz, Über Bakterizidie und Agglutination im Normalblute. Zeitschr. f. Heilkunde, 1903, 24, 8.

3) Gengou, Étude sur les rapports entre les agglutinines et les lysines dans le charbon. Ann. Pasteur, 1899, 13., 642.

mit 19 anderen Bakterienarten erhaltenen nicht in Übereinstimmung bringen. Nach seinen Angaben agglutinieren Tauben- und Mäuseserum den Milzbrandbazillus gewöhnlich gar nicht, Rattenserum agglutiniert ihn wenig, durchschnittlich in der Verdünnung von 1 : 10, Pferdeserum bei 1 : 30, Ziegenserum bei 1 : 40, Meerschweinchenserum ebenso, Hundeserum bei 1 : 100, Rinderserum bei 1 : 20 und Menschenserum hier und da noch bei einer Verdünnung von 1 : 500. Man mufs also annehmen, dafs die von mir für die Agglutination von 19 verschiedenen Bakterienarten aufgestellte Serumreihenfolge für den Milzbrandbazillus eine andere ist, oder dafs die Beobachtungen von Gengou aus irgendeinem Grunde nicht vollkommen richtig waren. Aber auch was die Normalagglutination von den Bakterienarten betrifft, die ich ebenfalls untersucht hatte, finden sich in der Literatur ganz abweichende Angaben. So soll normales Pferdeserum den Cholerabazillus, Kaninchenserum den Typhusbazillus nicht agglutinieren[1]), nach Jalta[2]) agglutiniert normales Kaninchenserum den Typhusbazillus noch in einer Verdünnung von 1 : 30, Schafserum aber agglutiniert ihn nicht, nach Posselt und Sagasser[3]) wird der Typhusbazillus vom Kaninchenserum stärker als vom Hühnerserum, vom Ziegenserum jedoch gar nicht agglutiniert, ebenso wirkt das letztgenannte Serum nach diesen Autoren kaum auf den Kolibazillus, den Kaninchenserum hauptsächlich aber Hühnerserum stark agglutiniert, und nach Nicolle und Trenell[4]) zeigt Kaninchenserum überhaupt keine Normalagglutination. Neben diesen, von den meinen aber auch unter sich stark abweichenden Resultaten treffen wir allerdings auch auf übereinstimmende, hauptsächlich finden beinahe alle Autoren immer das Meerschweinchenserum als das am

1) Siehe u. a. Kraus und Löw, Über Agglutinine. Wien. klin. Wochenschrift, 1899, Nr. 5.

2) Jalta, Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination der Typhusbazillen etc. Zeitschr. f. Hygiene, 1900, 33.

3) Posselt und v. Sagasser, Über Beeinflussung der Agglutinine durch spez. Absorptionen. Wiener klin. Wochenschr, 1903, 24.

4) Nicolle und Trenell, Recherches sur le phénomène de l'agglutination. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1902, 16, 562.

wenigsten wirksame.[1]) Nach Hetsch und Lentz[2]) sind choleraähnliche Vibrionen durch Pferdeserum agglutinierbar und Kolle[3]) hat sogar für die Normalagglutination des Choleravibrio eine Serumreihe aufgestellt, die von der meinen wenig abweicht. Ziegen- und Pferdeserum agglutinierten auch bei seinen Versuchen stärker als Kaninchenserum. Nach diesen unter sich sehr abweichenden Angaben, wie auch nach den Untersuchungen von Kraus[4]), Bordet[5]) und andern und nach der neuerdings erschienenen, schon erwähnten Arbeit Müllers[6]) scheinen die individuellen Agglutinationsverschiedenheiten bei der gleichen Tierspezies sehr grofs zu sein. Es kann sein, dafs ich namentlich deshalb so übereinstimmende Resultate bekam, weil ich für die Agglutination der verschiedenen Bakterien, soweit es anging, stets nur das Serum eines einzigen Individuums pro Tierspezies angewendet habe. Individuelle Unterschiede habe ich auch konstatieren können, allerdings waren diese niemals so grofs, dafs sie meine Ergebnisse wesentlich hätten beeinflussen können. Die Unterschiede meiner Resultate von denjenigen anderer Autoren sind also durch dieses Moment nicht völlig erklärt, doch dürften die Ergebnisse einer Arbeit, die sich eingehender als irgendeine andere mit dieser einen Frage beschäftigt hat, überzeugendere sein. Meine Untersuchungen werden noch fortgesetzt und auf andere Sera und Bakterien ausgedehnt werden, und ich zweifle nicht daran, dafs die für die bisher untersuchten Normalagglutinationen gültige Gesetzmäfsigkeit sich im allgemeinen bestätigen wird.

Die theoretische Bedeutung dieses eigentümlich regelmäfsigen Verhaltens der Sera gegen die verschiedensten zum Teil (Alkaligenes) nicht einmal pathogenen Bakterien werde ich erst später

---

1) Posselt u. v. Sagasser, a. a. O. Goldberg, Die Agglutinationsreaktion bei Infektionen etc. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1901, 30. 605.

2) Hetsch und Lentz, Beiträge etc. Festschrift f. Koch, 1904, 17.

3) Kolle, Über den jetzigen Stand der Choleradiagnose. Klin. Jahrbuch, 1903, 11.

4) a. a. O.

5) a. a. O.

6) Müller Georg, Über Agglutinine norm. Tiersera. Inaug.-Diss. 1907.

eingehend besprechen, weil ich hier noch eine Anzahl Versuche einzuschalten habe, die für die Auffassung der erwähnten Erscheinung nicht gleichgültig sind. Verschiedene Forscher haben seit längerer Zeit darauf aufmerksam gemacht, dafs einige chemische Eigentümlichkeiten der Immunstoffe in dem allgemeinen Verhalten kolloidal gelöster Stoffe ein Analogon und damit vielleicht auch ihre Erklärung finden. Seit Bordet[1]) nachgewiesen hat, dafs die Bakterien in salzfreier Lösung nicht agglutiniert werden, ist die Agglutination oft mit dem Aussalzen kolloidaler Stoffe aus ihrem Lösungsmittel verglichen worden. Dafs diese zwei Vorgänge nicht gleichwertig sind, ist allerdings klar, anderseits geht namentlich aus den Untersuchungen von Neisser und Friedemann[2]) und [3]) deutlich hervor, dafs die zweite Phase der Agglutination von Bakterien und das Ausflocken einer kolloidalen Lösung unter ähnlichen, ja zum Teil analogen Bedingungen zustande kommen. Es lag daher nahe, die ausflockende Wirkung der 10 verschiedenen Sera auf kolloidale Lösungen zu prüfen und zu sehen, ob sich hier vielleicht die gleiche Reihenfolge wie bei der Agglutination beobachten liefs.

Nach einigen Vorversuchen mit andern kolloidalen Lösungen, die sich als nicht geeignet für meine Zwecke erwiesen, habe ich, ausgehend von den Arbeiten Neissers und Friedemanns, ausschliefslich Mastixsuspensionen verwendet.

Nachdem ich etwas Mastixharz in ganz wenig Alkohol gelöst, die Lösung in destilliertes Wasser gegossen und das Ganze filtriert hatte, bestimmte ich durch Verwendung absteigender Quantitäten die Menge Kochsalz, die der Mastixsuspension zugesetzt, gerade nicht mehr genügt, eine Fällung zu erzeugen. Die vielen Vorversuche, die eigentlich nur dazu dienten, gewisse Täuschungen unmöglich zu machen, will ich hier nicht anführen. Ich habe

1) Bordet, Le mécanismne de l'agglutination. Ann. de l'Inst. Pasteur, Bd. 13, S. 225 ff.

2) Neisser und Friedemann, Studien über Ausflockungserscheinungen. Münchener med. Wochenschr., 1903, 11.

3) Derselbe, Studien über Ausflockungserscheinungen II. Dieselbe Zeitschrift 1904, Nr. 19.

schliefslich jedem Gläschen 0,25 ccm einer 3,75 proz. Na Cl-Lösung zugesetzt. Ein geringes Plus an Na-Cl-Lösung verursachte Fällung. Bei einer anderen Reihe verwendete ich 0,2 ccm. In einem Punkte allerdings mufsten sich diese Experimente grundsätzlich von den Agglutinationsversuchen unterscheiden. Die Sera konnten der mit Kochsalz versetzten Mastixsuspension nur in kolossalen Verdünnungen zugesetzt werden, da oberhalb solcher Verdünnungen, die durchschnittlich mit 1 : 1000 begannen und bis auf 1 : 100 und 300 Millionen hinuntergingen, die Ausflockung gehemmt wird.

Auch durften die Sera nicht mit physiologischer Kochsalzlösung sondern nur mit destilliertem Wasser verdünnt werden, da ein weiterer Salzzusatz zu der Mastixsuspension sogleich Ausflockung herbeigeführt hätte.

Um die Sera chemisch nicht zu sehr zu verändern, wurden sie allerdings zuerst auf den zehnten Teil durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, von da ab aber nur mit destilliertem Wasser. Da die Sera niemals in einer Verdünnung, die weniger als 1 : 500 und selten in einer Verdünnung, die weniger als 1 : 1000 betrug, zur Verwendung kamen und die Ausflockungen gewöhnlich erst von der Verdünnung 1 : 3000 an begannen, konnte das minimale Plus an Kochsalz, das durch den Serumzusatz der Mastixsuspension erzielt wurde, nicht in Betracht kommen. Auf 1 ccm der Mastixsuspension kam immer 1 ccm der Serumlösung. Welche Verdünnungen ich anwendete, wird man am besten aus den Tabellen ersehen, und ich werde auf diesen Punkt später auch noch zu sprechen kommen.

Die Versuchsgläschen wurden ebenfalls 2 Stunden in den Brutschrank gestellt, dann bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurden die Resultate aufgeschrieben. Längeres Stehenlassen änderte sie kaum.

Die vielen Vorversuche, die nötig waren, um verschiedene Versuchsfehler sicher zu vermeiden und mich über die notwendigen Verdünnungen zu orientiren, und die zum Teil schon ganz brauchbare Resultate lieferten, lasse ich hier weg.

Ich habe schliefslich, als ich die Experimente genügend vorbereitet hatte, die folgenden Resultate erhalten:

Tabelle I.

Salzzusatz 0,25 der 3,75 proz. Na Cl-Lösung.

Verdünnung des Serums	Meerschweinchen	Kaninchen	Hund	Huhn	Hammel	Ziege	Pferd	Rind
1 : 500	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1 000	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 3 000	—	—	—	—	×	+	—	=
1 : 10 000	—	×	×	+	×	×	×	×
1 : 30 000	+?	=	×	×	×	×	×	=
1 : 100 000	—	+	+	+	=	+	=	=
1 : 300 000	—	×	+	—	+	×	=	+
1 : 1 000 000	—	+?	+	—	—	+	=	+
1 : 3 000 000	—	—	—?	—	—	+	=	—
1 : 10 000 000	—	—	—	—	—	×	=	—

Ich habe zu diesen Versuchen sowie auch zu den nächsten im allgemeinen inaktive Sera benutzt, ich erwähne übrigens, dafs sowohl in dieser Versuchsreihe als auch in den zwei nachfolgenden (Tabelle II und III) noch einige Versuchsfehler störend gewirkt haben, doch halte ich mich nicht für berechtigt, diese Serien deshalb auszuschliefsen.

Ein Nachversuch mit aktivem Ziegenserum ergab folgendes Resultat:

Verdünnung	1 : 500	—
»	1 : 1 000	—
»	1 : 3 000	—
»	1 : 10 000	×
»	1 : 30 000	×
»	1 : 100 000	×
»	1 : 300 000	×
»	1 : 1 000 000	×
»	1 : 3 000 000	=
»	1 : 10 000 000	=

Tabelle II.
(Zusatz 0,25) Verhältnisse auch sonst wie bei 1.

Verdünnung des Serums	Meerschweinchen	Kaninchen	Hund	Huhn	Hammel	Ziege	Pferd	Rind
1 : 3 000	−	−	−	+	−	−	−	×
1 : 10 000	−	−	+	+	−	−	×	×
1 : 30 000	−	×	−	=	×	=	×	=
1 : 100 000	−	×	=	−	×	×	×	+
1 : 300 000	−	×	−	−	×	×	=	−
1 : 1 000 000	−	−	−	−	×	×	=	−
1 : 3 000 000	−	−	−	−	+	×	−	−
1 : 10 000 000	−	−	−	−	−	×	+	−
1 : 30 000 000	−	−	−	−	−	+	−	−
1 : 100 000 000	−	−	−	−	−	−	−	−
1 : 300 000 000	−	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle III.
Zusatz 0,2, sonst wie 1 und 2.

Verdünnung des Serums	Meerschweinchen	Kaninchen	Hund	Huhn	Hammel	Ziege	Pferd	Rind
1 : 3 000	−	−	−	−	−	−	−	=
1 : 10 000	−	−	+	−	−	−	×	×
1 : 30 000	−	×	+	−	−	−	×	×
1 : 100 000	−	+	+	−	=	−	=	+
1 : 300 000	−	−	−	−	−	−	−	−
1 : 1 000 000	−	−	−	−	=	−	−	−
1 : 3 000 000	−	−	−	−	−	=	−	−
1 : 10 000 000	−	−	−	−	−	=	−	−
1 : 30 000 000	−	−	−	−	−	−	−	−
1 : 100 000 000	−	−	−	−	−	−	−	−
1 : 300 000 000	−	−	−	−	−	−	−	−

Die Resultate, die ich mit dem geringeren Salzzusatz erhielt, waren bedeutend weniger günstig, die Fällung durch Rinderserum war allerdings die gleiche geblieben, dagegen war die Ausflockung des Mastix durch die anderen Sera bedeutend zurückgegangen und daher weniger gut zu vergleichenden Betrachtungen geeignet. Ich machte nun zunächst einige Nachprüfungen, um zu sehen, ob dieser durch verschiedenen Salzzusatz bedingte Unterschied ein konstanter sei, oder ob man vielleicht bei Ver-

wendung ganz frischen und aktiven Serums andere Resultate bekomme. Da Ziegen- und Hammelserum bei Zusatz von 0,2 der genannten Salzlösung auffallend wenig gefällt hatte, benutzte ich diese zwei Sera, um mir über diesen Punkt Klarheit zu verschaffen.

Verdünnung	Ziegenserum (alt) Zusatz 0,2	Ziegenser. (frisch) Zusatz 0,25	Ziegenser. (frisch) Zusatz 0,2	Hammelser. (frisch) Zusatz 0,25	Hammelser. (frisch) Zusatz 0,2
1 : 3 000	—	—	—	—	—
1 : 10 000	—	—	—	—	—
1 : 30 000	—	—	—	×	+
1 : 100 000	—	—	—	×	+
1 : 300 000	—	+	—	×	×
1 : 1 000 000	—	+	—	×	=
1 : 3 000 000	=	×	×	=	+
1 : 10 000 000	=	×	×	=	—
1 : 30 000 000	+	×	×	—	—
1 : 100 000 000	—	—	+	-	—
1 : 300 000 000	—	—	—	—	—

Wenn man in dieser Tabelle die mit altem und inaktiviertem Hammelserum und gleichzeitigem Zusatz von 0,2 (Tabelle 3) sowie die mit altem Ziegen- und Hammelserum bei Zusatz von 0,25 erhaltenen Werte (Tabelle I und II) aufnimmt, dann bekommt man — ohne einen absolut sicheren Beweis dafür zu haben — den Eindruck, dafs es besser ist, frisches aktives Serum für diese Untersuchungen zu benutzen, und man sieht, dafs ein Zusatz von 0,25 der Salzlösung jedenfalls besser vergleichbare Resultate liefert als eine von 0,2 ccm. Ich nahm mir daher vor, eine letzte Versuchsreihe mit lauter frischen, aktiven Sera und mit einem für alle Gläschen gleichbleibenden Zusatz von 0,25 ccm einer 3,75proz. NaCl-Lösung vorzunehmen.

Bevor ich jedoch diese neue Versuchsreihe ansetzte, wollte ich noch sehen, ob man ev. bei Anwendung von noch zahlreicheren, näher aneinander gerückten Verdünnungen feinere Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Sera, die der Beobachtung wegen der zu weit auseinanderliegenden Serum-

konzentrationen entgangen sein konnten, wahrnehmen könne. Die sehr ausgedehnten Versuche, die ich nach dieser Richtung hin vornahm, will ich hier nicht wiedergeben, da sie kein unzweideutiges Resultat ergaben. Sie sprachen eher dafür, dafs die von mir gewählten Verdünnungen die richtigen waren, es ist aber nicht ausgeschlossen, dafs man durch Anwendung von noch zahlreicheren Verdünnungen wenigstens in einigen Punkten doch besseren Aufschlufs erlangen würde.

Die letzten Resultate, welche ich nun unter ausschliefslicher Verwendung von frischen, aktiven Sera und konstantem Zusatz von 0,25 ccm eine 3,75 proz. NaCl-Lösung pro Versuchsröhrchen erhielt, sind in den Tabellen IV und V wiedergegeben.

Tabelle IV.

Verdünnung des Serums	Meerschweinchen	Mensch	Kaninchen	Hund	Huhn	Gans	Hammel	Ziege	Pferd	Rind
1 : 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 3 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 30 000	+ ?	—	—	—	—	—	—	+	+	—
1 : 100 000	—	—	—	—	—	—	=	+	—	×
1 : 300 000	—	—	—	—	—	—	=	×	×	×
1 : 1 000 000	—	—	—	—	—	—	×	+	×	×
1 : 3 000 000	—	—	—	+	—	—	—	—	+	[illegible]
1 : 10 000 000	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
1 : 30 000 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 100 000 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 300 000 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wenn man diese fünf Tabellen untereinander vergleicht, so fällt sogleich eine gewisse Inkonstanz der Resultate auf, die jedenfalls nicht nur auf Versuchsfehler, wie sie bei Anwendung so

Tabelle V.

Verdünnung des Serums	Meerschweinchen	Mensch	Kaninchen	Hund	Huhn	Gans	Hammel	Ziege	Pferd	Rind
1 : 1 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 3 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 30 000	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—
1 : 100 000	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
1 : 300 000	+?	—	—	—	—	—	+	—	—	×
1 : 1 000 000	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—
1 : 3 000 000	—	—	—	—	—	—	+	+	×	+
1 : 10 000 000	—	—	—	—	—	—	+	+	×	—
1 : 30 000 000	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
1 : 100 000 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 300 000 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

vieler und so grofser Verdünnungen ja leicht vorkommen können, zurückzuführen sind. Die Tatsache, dafs die gleichen Tiersera Mastixsuspensionen bei gleichem Salzzusatz oft in ganz verschiedenen Konzentrationen fällen, wäre wohl am einfachsten aus individuellen Verschiedenheiten zu erklären, und es scheint in der Tat, dafs solche Unterschiede bei der Fällung von Mastix noch deutlicher zutage treten als bei der Agglutination. So stimmen denn auch namentlich die Resultate, die ich mit alten, inaktivierten Sera bekam (Tabelle I und II) mit denjenigen der letzten zwei Tabellen, denen lauter Versuche mit frischen, aktiven Sera zugrunde liegen, untereinander schlecht überein, während die Ergebnisse in den Tabellen I und II und in den Tabellen IV und V nicht so weit auseinanderliegen. Immerhin ist die Übereinstimmung sogar in den Resultaten, die in den Tabellen IV und V wiedergegeben sind, und die mit ganz besonderer Sorgfalt und mit dem genau gleichen Material erworben worden sind, keine vollständige. Die Gründe für diese Abweichungen müssen jedenfalls in der Untersuchungsmethode gesucht werden. Leider war

in Anbetracht der sehr sorgfältigen Durchführung dieser Versuche und der gründlichen Vor- und Nachprüfungen, die ich hier, um nicht zu ermüden, nicht zahlenmäfsig wiedergebe, keine Aussicht vorhanden, durch Aufstellen weiterer Versuchsreihen die Resultate völlig zur Deckung zu bringen. Trotzdem darf ich aus den vorliegenden Ergebnissen wohl mit Recht schliefsen, dafs das von mir für die Agglutination von Bakteriensuspensionen aufgestellte Gesetz einer bestimmten Serumreihenfolge auch für die Ausflockung von Mastix gültig zu sein scheint. Ich kann freilich nicht so weit gehen, zu sagen, Mastix wird, wie eine jede Bakteriensuspension von den zehn von mir untersuchten Sera in der folgenden Stärkereihenfolge gefällt: Rind, Pferd, Ziege, Hammel, Huhn, Gans, Hund, Kaninchen, Mensch, Meerschweinchen; denn erstens bekam ich mit verschiedenen Sera gewöhnlich gar keine Ausflockung, so dafs sich schon aus diesem Grunde eine genaue Abstufung der Wirkung von Serum zu Serum gar nicht beobachten liefs, zweitens variieren die Resultate, die ich mit dem Serum der gleichen Tierspezies erhielt, hier und da ziemlich beträchtlich, so dafs sich auch das Wirkungsverhältnis der Glieder einer Gruppe unter sich verschiebt, und drittens ist es gerade bei diesen Versuchen aufserordentlich schwer, Hemmungen, die ja unzweifelhaft vorhanden sind, von einem Ausbleiben der Fällung aus Mangel an fällender Substanz zu unterscheiden, dies namentlich dann, wenn in der ganzen Reihe keine einzige Ausflockung aufgetreten ist. Mit absoluter Sicherheit läfst sich nur das eine sagen: Rind, Pferd, Ziege und Hammel bilden auch hier eine einheitliche Gruppe, die sich in ihrem Fällungsvermögen von allen anderen sieben untersuchten Tiergattungen grundsätzlich unterscheidet und allem Anschein nach — ich erinnere an das oben über die allfälligen Hemmungen Gesagte — Mastix am stärksten von allen Sera fällt. Jedenfalls zeichnet sich diese Gruppe durch eine ziemlich scharf umgrenzte charakteristische Fällungszone aus. Auch scheinen Rind und Pferd — namentlich wenn man die letzten zwei Tabellen ins Auge fafst — entschieden stärker zu fällen als Ziege und Hammel, sowie sie auch stärker agglutinieren. Im Gegensatz

dazu und in Übereinstimmung mit den Agglutinationsversuchen fällt Meerschweinchenserum Mastix am wenigsten. Eine sichere Fällung wurde in keinem Falle konstatiert. Die übrigen Sera halten sich in der Mitte zwischen diesen zwei Extremen, eine bestimmte Reihenfolge wage ich für sie nicht aufzustellen, namentlich weil die Sera von Gans und Huhn sich als relativ wenig wirksam erwiesen.

Eine vollständige Übereinstimmung mit den Agglutinationsversuchen liefs sich a priori gar nicht erwarten, da die Verhältnisse ja durchaus keine analogen waren. Um vollkommen gleichförmige Bedingungen zu haben, müfste man einen kolloidalen Stoff kennen, der, wie Bakteriensuspensionen, in physiologischer Kochsalzlösung durch Serum gefällt wird. Versuche, die wir in dieser Richtung unternahmen, mifsglückten leider. Es bleibt aber immerhin interessant, dafs die Stärkereihenfolge, in der Mastix durch Tiersera gefällt wird, mit der von mir für die Normalagglutination aufgestellten soweit übereinstimmt, als bei der Verschiedenheit der Versuchsbedingungen überhaupt erwartet werden konnte. Wenn man diese Übereinstimmung nicht als eine zufällige ansehen und, ohne einen Anhaltspunkt zu haben, annehmen will, verschiedene Ursachen führten hier zu einem ähnlichen Resultate, dann wird man sie bei einer zusammenfassenden Betrachtung meiner Agglutinationsergebnisse berücksichtigen müssen.

Das hauptsächlichste Resultat meiner Arbeit lautet also: *die Bakterien werden normalerweise durch die verschiedenen Tiersera in einer immer gleichbleibenden Stärkereihenfolge agglutiniert und diese Reihenfolge gilt im allgemeinen auch für die Ausflockung von Mastix durch die gleichen Sera.*

Dieses Resultat findet eine ungezwungene Erklärung nur unter der Annahme, dafs in jedem Serum eine einheitliche Substanz vorhanden ist, welche die Agglutination sämtlicher untersuchter Bakterienarten bewirkt und deren physikalische Beschaffenheit

und Menge den Agglutinationstiter des Serums bestimmt. Eine derartige Annahme befindet sich aber in Widerspruch mit den herrschenden Anschauungen über die normalen Agglutinine und mit experimentell festgestellten Tatsachen. Die Untersuchungen mittels der spezifischen Absorptionsmethode haben ergeben, dafs ein mit einer bestimmten Bakterien- oder Blutkörperchenspezies zusammengebrachtes Serum die Agglutinationsfähigkeit nur für diese eine Zellart verliert, während sie für alle anderen Zellarten quantitativ erhalten bleibt — besser gesagt, erhalten bleiben kann (Bordet, Malkof, Landsteiner), und man hat aus dieser Tatsache den Schlufs gezogen, dafs im Blutserum für jedes Bakterium oder Blutkörperchen ein besonderes Agglutinin vorhanden sei. Allerdings ist diese Erklärung, nicht die einzig mögliche, und Landsteiner hat auf Grund ähnlicher Anschauungen von Bordet die Vermutung geäufsert, dafs bei der »spezifischen Absorption« gar keine Absorption, sondern eine spezifische Beeinflussung des Serums stattfinde, die ihm die Fähigkeit, die benutzte Bakterienart zu agglutinieren, nimmt. Diese Anschauung fand jedoch in den von Landsteiner[1]) selbst ausgeführten Versuchen keine Stütze.

Die Annahme der Vielheit der normalen Antikörper ist nun für die gesamte Theorie der Immunitätserscheinungen von grundlegender Bedeutung. Bekanntlich geht die Ehrlichsche Seitenkettentheorie von dem Gedanken aus, dafs die durch Immunisierung enstandenen Antikörper bereits in den Zellen des Organismus präformiert sind und auf den Reiz der Immunisierung nur in vermehrtem Mafse gebildet werden.

Die aus den Ergebnissen der spezifischen Absorptionsmethode abgeleitete Vielheit der normalen Antikörper ist stets mit Recht als eine der besten Stützen dieser Theorie angesehen worden.

---

1) Landsteiner, Über Serumagglutinine. Münchener med. Wochenschrift, 1902, S. 1950 ff.

Da wir vorläufig keinen Grund haben, an der Richtigkeit der mit der spezifischen Absorptionsmethode erhaltenen Resultate zu zweifeln, will ich versuchen, die von mir festgestellten Tatsachen mit den herrschenden Anschauungen in Einklang zu bringen.

Wenn wir annehmen, dafs das Serum für jedes Bakterium ein besonderes Agglutinin besitzt, dann folgt aus meinen Beobachtungen, dafs diese verschiedenen Agglutinine im Blute in ganz bestimmten, bei jeder Tierart wiederkehrenden Mengenverhältnissen zueinander stehen müssen, ferner, dafs die Zellen einzelner Tierarten eine viel höhere Fähigkeit der Gesamtagglutininproduktion haben als die Zellen anderer Spezies. Diese Annahmen haben schon an sich etwas Gezwungenes, werden aber ganz unwahrscheinlich durch meine Beobachtungen an Mastixsuspensionen, deren Ausflockung durch die Sera in ungefähr derselben Reihenfolge vor sich ging wie die Bakterienagglutination. Diese Ergebnisse lassen sich ungezwungen nur auf physikalische Unterschiede der verschiedenen Tiersera zurückführen, Unterschiede, deren Art und Ursache allerdings vorderhand unerklärt bleiben müssen.

Nun wissen wir durch die Untersuchungen Bordets, dafs der Agglutinationsvorgang sich in zwei Phasen zerlegen läfst, in eine erste, die in der Bindung des Agglutinins besteht, und in eine zweite, die einen physikalischen Ausflockungsvorgang darstellt. Auf Grund dieser Vorstellung könnte man annehmen, dafs allerdings im Serum für jede Bakterienart besondere Substanzen vorhanden sind, deren Bindung erst den Eintritt der Agglutination ermöglicht; dafs diese Stoffe aber in allen Seris stets im Überschufs vorhanden sind und Unterschiede im Agglutinationstiter der verschiedenen Sera durch sie nicht bewirkt werden, sondern dafs diese Verschiedenheiten vielmehr auf gewisse, bisher nicht bekannte physikalische Faktoren der Sera zurückzuführen sind, welche für die zweite, nicht spezifische Phase des Agglutinationsvorganges ausschlaggebende Bedeutung haben.

Diese Annahme, die sowohl den alten als auch den von mir gefundenen neuen Tatsachen genügen könnte, hat natürlich, solange sie nicht durch weitere Experimente gestützt ist, nur den Wert einer vorläufigen Hypothese. Meine Versuchsergebnisse erlauben nicht weiterzugehen, regen aber zu einer gründlichen Nachprüfung des Gesetzes der spezifischen Absorption an.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

Von

Prof. Dr. **L. v. Liebermann,**

Direktor des hygienischen Institutes der Universität Budapest.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Budapest.)

Vorbemerkung.

Seit den grundlegenden Arbeiten von J. Bordet[1]), P. Ehrlich und J. Morgenroth[2]) sind zwar zahlreiche Versuche über Hämagglutination und Hämatolyse mitgeteilt worden, aber darunter nur wenige, die wie die Arbeiten von Preston Kyes[3]), Kyes und Sachs[3]), K. Landsteiner und M. v. Eisler[4]), Ph. Eisenberg[5]), J. Bang und J. Forfsmann[6]), K. Landsteiner und N. Jagič[7]) unter Anwendung eigentlich chemischer Methoden die nähere Charakterisierung oder Isolierung der bei jenen Prozessen wirksamen Stoffe angestrebt und so unsere Einsicht in den Mechanismus dieser Prozesse wesentlich gefördert hätten.

Wir sind in dieser Beziehung bisher nicht viel weiter gekommen, als dafs es sich im allgemeinen um chemische Pro-

[1]) Ann. d. l'Inst. Pasteur, T. XII, p. 688 (1898).

[2]) Gesammelte Arbeiten über Immunitätsforschung, Berlin, 1904.

[3]) Ibidem.

[4]) Zentralbl. f. Bakteriolog. XXXIX, S. 309.

[5]) Ibidem XLI, S. 240.

[6]) Ibidem XL, S. 151.

[7]) München. med. Wochenschr. 1903.

zesse handeln dürfte, ein Resultat, welches aber schon nach den oben erwähnten grundlegenden Versuchen zu erwarten war.

Eine klare Vorstellung von dem, was da geschieht, wenn auch nur auf Grund mehr oder weniger begründeter Hypothesen, ist nach dem heutigen Stande der Dinge nicht möglich.

Dafs dem so ist, darüber kann man sich nicht wundern. Dieses Forschungsgebiet ist erst vor relativ kurzer Zeit erschlossen worden, und man hat es überdies mit den höchst kompliziert zusammengesetzten Blutkörperchen und Blutseris zu tun, welch letztere, da es sich um Immunsera handelt, schon wegen der Beschaffung ausreichenden Materials, einer chemischen Untersuchung grofse Schwierigkeiten bereiten.

Ich habe es daher für notwendig gehalten, zunächst verhältnismäfsig einfache, einer chemischen Untersuchung zugänglichere Reaktionen zu studieren, als es diejenigen sind, welche durch agglutinierende und hämatolytische Sera bewirkt werden, und erst auf Grund der so gewonnenen Erfahrungen auf das Studium der letztgenannten überzugehen. Ich glaube mich in der Richtigkeit des eingeschlagenen Weges nicht getäuscht und nun wirklich einige Anhaltspunkte gewonnen zu haben, welche es gestatten, derartigen Fragen näher zu treten.

Eine Übersicht über den Inhalt der folgenden Blätter mag den von mir eingeschlagenen Weg andeuten.

I. Über Hämagglutination durch Ricin und die Umstände, welche sie befördern oder verzögern.

II. Beziehungen zwischen Ricinagglutination und Hämatolyse, nebst Bemerkungen über Hämatolyse durch destilliertes Wasser.

III. Über die Wirkung von Kieselsäure auf Blutkörperchen.

IV. Über die hämatolytische Wirkung des Guajaksaponins.

V. Über hämatolytische Sera. Wirkung von Säuren und Alkalien.

VI. Über die Änderung der Hydroxyl-Ionen-Konzentration beim Inaktivieren der Sera und deren Einflufs auf die Hämatolyse.

VII. Über den Nachweis und die Isolierung des hämatolytischen Immunkörpers.

VIII. Die Natur der hämatolytischen Komplemente und Immunkörper und der Mechanismus der Hämatolyse durch hämatolytisches Serum.

I. Über Hämagglutination durch Ricin.

1. Entsteht bei der Einwirkung von Ricin auf Blutkörperchen eine nachweisbare Ricinverbindung? Ist etwa die agglutinierte Masse eine solche und kann also demgemäfs das Ricin aus dieser wieder freigemacht werden?

Meine Versuche haben gezeigt, dafs diese Fragen bejaht werden müssen. Die agglutinierte Masse kann durch Salzsäure zerlegt werden und mit dem freigewordenen Ricin kann eine neue Portion Blutkörperchen agglutiniert werden. Als Beispiel folgender Versuch:

20 Tropfen einer 5 proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion [1]) wurden mit 2 Tropfen 0,25 proz. Ricinlösung (Ricin in physiologischer Na Cl-Lösung) versetzt und nach eingetretener Agglutination zentrifugiert. Die abgegossene Lösung agglutiniert nicht mehr.

Der Rückstand — die agglutinierte Masse — wurde mit 1 Tropfen $\frac{n}{10}$ H Cl und 10 Tropfen physiologischer Na Cl-Lösung behandelt. Nach einigem Stehen braune Lösung, welche, mit 1 Tropfen $\frac{n}{10}$ Na OH versetzt, neuerdings zugesetzte Blutkörperchen-Emulsion typisch agglutinierte. Zur Kontrolle ebenso behandelte, nicht agglutinierte (ricinfreie) Blutkörperchen gaben keine agglutinierende Flüssigkeit.

2. Mit welchem Bestandteile der Blutkörperchen verbindet sich das Ricin?

Die Versuche haben gezeigt, dafs es sich mit dem Stroma verbindet, mit dem Hämoglobin aber nicht.

Agglutinierte Blutkörperchen (ich habe eine Menge verwendet, welche aus 25 ccm Blutkörperchen-Emulsion und 5 ccm

[1]) Die mit physiologischer Na Cl-Lösung gewaschenen Blutkörperchen aus 5 ccm defibriniertem Schweineblut mit physiologischer Na Cl-Lösung auf 100 ccm gebracht.

einer 2proz. Ricinlösung entstanden war) werden mit destilliertem Wasser behandelt. Dieses löst den Blutfarbstoff. Das Gemenge wird zentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen, abermals destilliertes Wasser zugesetzt, durchgeschüttelt, wieder zentrifugiert und wieder abgegossen. Dies wiederholt man so lange, bis aller Blutfarbstoff ausgewaschen ist und eine leicht grau gefärbte Masse zurückbleibt. Diese versieht man nun mit zehn Tropfen physiologischer NaCl-Lösung und einem Tropfen $\frac{n}{100}$ Salzsäure und erwärmt unter öfterem Durchschütteln ganz schwach, höchstens auf 40°. Dann filtriert man und setzt zu dem völlig klaren Filtrat drei Tropfen $\frac{n}{100}$ Natronlauge und zehn Tropfen einer Blutkörperchen-Emulsion. (Ich habe zu den Versuchen, wie schon früher erwähnt wurde, gewaschene Schweineblutkörperchen verwendet, 5proz.Emulsion in physiologischer NaCl-Lösung.) Es tritt sofort typische Agglutination ein. — Kontrollversuche mit Blutkörperchen Stromata ohne Ricin geben negatives Resultat.

Die oben erwähnte abzentrifugierte Blutfarbstofflösung wird mit ein paar Tropfen $\frac{n}{100}$ Salzsäure mäfsig erwärmt, dann abfiltriert und mit $\frac{n}{100}$ Natronlauge genau neutralisiert, dann so viel NaCl zugesetzt, dafs die Flüssigkeit einer 0,9proz. NaCl-Lösung entspricht; dann setzt man etwa 20 Tropfen Blutkörperchen-Emulsion zu. Es tritt keine Agglutination ein. Auch nach 12stündigem Stehen über Nacht habe ich unter dem Mikroskop die charakteristischen Veränderungen der Blutkörperchen nicht gesehen.

Das im vorigen Punkte erwähnte kann übrigens auch auf andere Weise gezeigt werden. Wenn man Blutkörperchen-Stromata in physiologischer NaCl-Lösung verteilt, dann ein paar Tropfen $\frac{n}{100}$ Natronlauge zusetzt, so entsteht eine anscheinend homogene, opake, visköse Flüssigkeit. Bei Zusatz von Ricinlösung entsteht ein Niederschlag.

Schon im Jahre 1888 hat R. Koberts Schüler Hermann Stillmark[1]) auf Grund seiner Versuche ausgesprochen, dafs Suspensionen von Blutkörperchen-Stromata (Pferdeblut) in physiologischer NaCl-Lösung von Ricinlösungen zu einem Niederschlag zusammengeballt werden, ferner dafs das Hämoglobin sich an der »Ricingerinnung« nicht beteiligt.

Meine in etwas abweichender Art ausgeführten Versuche bestätigen also die Angaben Stillmarks und erweitern sie durch den Nachweis, dafs hier wirklich eine Ricinverbindung entsteht und dafs den agglutinierten Blutkörperchen bzw. deren Stromata das Ricin durch geeignete Behandlung wieder entzogen werden kann.

3. Welche Umstände befördern oder verhindern die Ricinagglutination?

Diesbezügliche Versuche, zu denen sich Kaninchenblutkörperchen-Emulsionen besser eignen als solche aus Schweineblut, haben erwiesen, dafs die Ricinagglutination durch Zusatz von Säuren verzögert oder gar verhindert, durch Alkalihydroxyde aber gefördert wird.

Die Versuche wurden mit 5proz. Kaninchenblutkörperchen-Emulsionen, 0,25proz. Ricinlösungen (in 10proz. NaCl-Lösung) und mit $\frac{n}{100}$ Säuren bzw. $\frac{n}{100}$ Natronlauge, welche mit Kochsalz auf den Gehalt einer physiologischen Kochsalzlösung gebracht worden waren, vorgenommen.

Seite 284 folgen einige derartige Versuche.

In einem anderen Versuch wurden die betreffenden Ricinlösungen mit Säure bzw. Lauge versetzt und dann der Blutkörperchen-Emulsion zugesetzt, nicht so wie in der obigen Versuchsreihe, wo Säure bzw. Lauge der Blutkörperchen-Emulsion und nicht der Ricinlösung zugesetzt wurden. Es machte dies im Resultat nur insofern einen Unterschied, als beobachtet werden

[1]) Arbeiten des pharmakologischen Instituts in Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, S. 93—94.

konnte, dafs ein mit Lauge vorher versetztes Ricin langsamer agglutinierte, als reines Ricin, das der vorher mit Lauge versetzten Blutkörperchen-Emulsion zugesetzt wurde.

Tropfen.

Nr.	Blutk.-Emulsion	Ricinlösung	$\frac{n}{100}$ HCl	$\frac{n}{100}$ NaOH	phys. NaCl	Resultat der Beobachtung
I.	10	1	1	0	0	Überall Agglutination, jedoch am stärksten bei II.
II.	10	1	0	1	0	
III.	10	1	0	0	1	
I.	10	1	2	0	0	I. Agglutin. erst nach längerer Zeit.
II.	10	1	0	2	0	II. Agglutin. momentan.
III.	10	1	0	0	2	III. Agglutin. etwas später.
I.	10	1	3	0	0	I. Agglutin. erst nach längerer Zeit.
II.	10	1	0	3	0	II. Agglutin. momentan.
III.	10	1	0	0	3	III. Agglutin. viel später.
I.	10	1	5	0	0	I. Keine Aggl. Methämoglobinbldg.
II.	10	1	0	5	0	II. Agglutin. momentan.
III.	10	1	0	0	5	III. Agglutin. später und schwächer.
—	10	0	0	2	0	Keine unmittelbar zu beobachtende Aggl. Keine wesentliche Änderung.

Die die Agglutination verzögernde oder bei steigender Menge verhindernde Wirkung der Säure wurde nicht nur bei Salzsäure, sondern auch bei anderen Säuren, Schwefelsäure und Essigsäure, konstatiert, z. B. in folgendem Versuch mit Kaninchenblutkörperchen-Emulsion, mit Parallelbestimmungen, aus denen auch wieder die fördernde Wirkung der Lauge ersichtlich ist.

I.	10 Tropfen	Blutkörperchen-Emulsion	+ 3 Tropfen	phys. NaCl-Lösung	+ 1 Tropfen	0,25 proz. Ricinlösung
II.	10 »		+ 3 »	» »	+ 1 »	
III.	10 »		+ 3 »	$\frac{n}{100}$ Salzsäure	+ 1 »	
IV.	10 »		+ 3 »	» »	+ 1 »	
V.	10 »		+ 3 »	» Schwefelsäure	+ 1 »	
VI.	10 »		+ 3 »	» »	+ 1 »	
VII.	10 »		+ 3 »	» Essigsäure	+ 1 »	
VIII.	10 »		+ 3 »	» »	+ 1 »	
IX.	10 »		+ 3 »	» Natronlauge	+ 1 »	
X.	10 »		+ 3 »	» »	+ 1 »	

Agglutination am schnellsten, fast augenblicklich in IX. und X., merklich später in I. und II.

Die übrigen zeigen innerhalb einer Stunde keine Agglutination.

Bezüglich des Einflusses der Lauge wurde ferner beobachtet, dafs es für die Menge derselben ein schon bei geringer Konzentration eintretendes Optimum gibt.

Versetzte man je zehn Tropfen Kaninchenblutkörperchen-Emulsion mit zwei, drei resp. vier Tropfen $\frac{n}{100}$ Natronlauge und dann mit je einem Tropfen 0,25 proz. Ricinlösung, so sah man deutlich, dafs die drei Tropfen Lauge enthaltende Flüssigkeit rascher agglutinierte als jene, welche nur zwei Tropfen Lauge enthielt, dafs aber vier Tropfen schon einen Rückgang in der Geschwindigkeit hervorriefen. Die Agglutination trat zwar noch immer schneller ein als ohne Lauge, aber schon langsamer als in jenen Proberöhrchen, welche nur drei Tropfen Lauge enthielten.

Alle diese Angaben beziehen sich, wie wiederholt bemerkt wurde, auf Kaninchenblutkörperchen-Emulsionen.

Bei Schweineblut wurde ein etwas abweichendes Verhalten beobachtet. Die verzögernde Wirkung der Säuren trat allerdings auch hier, wenn auch nicht so scharf wie bei Kaninchenblut, in Erscheinung, aber eine die Agglutination befördernde, beschleunigende Wirkung der Lauge war hier nicht zu konstatieren hie und da war sogar das Gegenteil der Fall.

Blutkörperchen verschiedenen Ursprungs können sich also gegen Säuren und Laugen verschieden verhalten.

4. Lassen sich die soeben (in Punkt 3) beschriebenen Beobachtungen mit den chemischen Eigenschaften des Ricins in Einklang bringen?

Aus meinen Versuchen ging zunächst hervor, dafs das Ricin säureartiger Natur ist oder, da es ja erwiesenermassen zum mindesten aus zwei verschiedenen Stoffen besteht[1]), einen Körper enthält, der die Eigenschaften einer schwachen Säure hat.

[1]) Siehe meine Arbeit: Sind Toxine Fermente? (Deutsche medizinische Wochenschrift 1905.)

Es kann ferner gezeigt werden, dafs diese Säure bei der Agglutination von den Blutkörperchen zurückgehalten wird. Sie ist es also, welche die Agglutination bewirkt.[1])

Zum Beweise diene folgendes:

a) Das Ricin (Mercksches Präparat) reagiert sauer.

Bringt man ein Stäubchen auf mit Wasser befeuchtetes blaues Lackmuspapier, so entsteht ein intensiv roter Fleck.

Ricin löst sich zum gröfsten Teil in destilliertem Wasser. Diese stark schäumende Lösung reagiert ebenfalls sauer.

Die saure Reaktion rührt nicht etwa von saueren Phosphaten her, denn tagelang dialysierte Ricinlösungen bleiben sauer und der durch Eindampfen einer solchen sauren Lösung gewonnene Rückstand hinterläfst eine Asche, welche nur Spuren von Phosphorsäure enthält.

Was den Grad der Azidität anbelangt, sei bemerkt, dafs es sich nicht etwa um Spuren einer solchen handelt, wie folgendes zeigt:

1 g Ricin (Merck) wurde mit 50 ccm destilliertem Wasser verrieben und filtriert.

5 ccm dieses Filtrats gaben nach dem Eindampfen und Trocknen einen Rückstand von 0,0786 g mit 0,0145 Asche (18,4 %).

Andere 5 ccm desselben Filtrats (entsprechend 0,0641 g aschefreier Substanz) wurden unter Anwendung von zwei Tropfen alkoholischer Hämatoxylinlösung mit $\frac{n}{100}$ Lauge titriert und verbrauchten von dieser 0,8 ccm.

Eine Lösung von Ricin in destilliertem Wasser, welche 1,282 % aschefreie Substanz enthält, entspricht daher ungefähr einer $\frac{2}{1000}$ normalen Säure $\left(\text{genauer } \frac{17}{10000}\right)$, d. h. ihre Azidität beträgt ungefähr $\frac{1}{6}$ einer $\frac{n}{100}$ Säure.

Ich will es nicht unerwähnt lassen, dafs die in Wasser leicht und völlig klar lösliche Asche nicht sauer, sondern

[1]) Siehe meine Arbeit: Sind Toxine Fermente? (Deutsche medizinische Wochenschrift.)

alkalisch reagiert. Ihre Lösung wird mit Hämotoxylin sofort blauviolett.

Der hier in Betracht kommende Körper ist also eine sehr schwache Säure, so dafs deren Salze stark hydrolysieren, was ein scharfes Erkennen der Endreaktion beim Titrieren mit ungeeigneten Indikatoren unmöglich macht. Eine durch Lackmus rot gefärbte Ricinlösung wird z. B. beim Neutralisieren mit Natronlauge nicht entschieden blau, sondern violett und verändert ihre Farbe nur allmählich gegen blau hin.

b) Dafs der saure Körper bei der Agglutination zurückgehalten wird, beweist folgender Versuch:

5 ccm einer 2proz. Ricinlösung wurden mit 25 ccm 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion zusammengebracht. Nach eingetretener Agglutination wurde abfiltriert. Von dem völlig klaren Filtrate wurden 10 ccm mit $\frac{n}{100}$ H Cl, andere 10 ccm mit $\frac{n}{100}$ Na OH unter Anwendung von Azolitminlösung als Indikator titriert. Man hatte von diesen Hundertstel-Normallösungen nur je 1—2 Tropfen zuzusetzen, um entschieden rote bzw. entschieden blaue Farbe hervorzurufen. Letzteres ist von Wichtigkeit, denn verwendet man zur Kontrolle eine reine Ricinlösung, so sieht man, dafs eine rein blaue Farbe, wie schon oben erwähnt, nicht zustande kommt.

Die von den agglutinierten Blutkörperchen abfiltrierte Lösung enthielt also den sauren Körper des Ricins nicht mehr.

Ich kann nun zur Beantwortung der Frage schreiten, welche die Aufschrift dieses (vierten) Punktes bildet.

Da der agglutinierende Bestandteil des Ricins eine Säure ist, und das Wesentlichste der Reaktion auf Blut darin besteht, dafs sich diese schwache Säure mit dem Stroma der Blutkörperchen verbindet, so ist schon von vornherein zu erwarten, dafs diese Reaktion durch die Anwesenheit einer stärkeren Säure gestört wird, ja geradezu verhindert werden kann, denn nun wird es eben diese stärkere Säure und nicht das Ricin sein, die sich mit dem Stroma zu einer Verbindung vereinigt, welche wohl ganz andere Eigenschaften haben dürfte, als die Ricin-Stromaverbindung, insbesondere nicht diejenige Eigenschaft, welche sich als Verkleben der Teilchen — als Agglutination — äufsert.

Was aber die agglutinationsbefördernde Wirkung der Lauge anbelangt, die übrigens, wie schon früher erwähnt, nicht bei allen Blutarten so ausgesprochen ist wie bei Kaninchenblut, so dürfte hier die bekannte quellende Wirkung der Alkalien auf eiweifsartige Körper und Lecithalbumine eine wesentliche Rolle spielen, welche, da dabei das Stroma in eine schleimig-zähe, klebrige Masse verwandelt wird, schon an und für sich zu einer Art Agglutination der Blutkörperchen führt. Auf diese Frage will ich in der nächsten Mitteilung noch zurückkommen.

5. Was ist also der Mechanismus der Ricinagglutination?

Da nachgewiesen wurde, dafs das Ricin ein säureartiger Körper ist oder zum mindesten einen solchen enthält; da dieser Körper Basen bindet und von den Blutkörperchen zurückgehalten wird; da ferner gezeigt wurde, dafs es das Stroma ist, mit welchem sich dieser säureartige Körper des Ricins verbindet, und dafs es aus dieser Verbindung durch eine stärkere Säure — Salzsäure — wieder freigemacht werden kann, so dafs es auf frische Blutkörperchen abermals agglutinierende Wirkung entfaltet, und da endlich bewiesen wurde, dafs die Agglutination verzögert wird, ja sogar ganz ausbleibt, wenn die Blutkörperchen vorher mit einer stärkeren Säure behandelt werden, was sich sehr leicht damit erklärt, dafs diese Säure, indem sie sich mit dem Stroma der roten Blutkörperchen verbindet, das Herantreten des Ricins und die Bildung einer Ricin-Stromaverbindung verhindert, ist man also berechtigt, sich folgende Vorstellung zu machen: Die Ricinhämagglutination kommt in der Weise zustande, dafs das Ricin als Säure mit dem Stroma der roten Blutkörperchen — welches also hier die Rolle einer Base spielt — eine Verbindung gibt, die aus der Flüssigkeit rasch ausfällt. Das Zusammenballen kleinerer Aggregate zu gröfseren wäre an und für sich keine besondere Eigentümlichkeit dieser Ricinverbindung. Ähnliches — das Anwachsen kleiner gefällter Partikelchen während ihrer Senkung,

durch Begegnung und Oberflächenanziehung — sieht man auch bei anderen Niederschlägen. — Eigentümlich für jene Verbindung wäre nur ihre klebrige Beschaffenheit, welche bewirkt, dafs die gröfseren Aggregate auf mechanischem Wege, z. B. durch energisches Schütteln, nicht mehr leicht zu trennen sind.

Bei dieser Reaktion — der Hämagglutination — geschieht aber auch noch etwas anderes. Das Ricin zersetzt eine Verbindung, aus der die roten Blutkörperchen der Hauptsache nach bestehen: nämlich die Verbindung von Stromasubstanz und Hämoglobin.

Durch die Annahme dieser Verbindung erklärt sich auch die eingangs dieser Mitteilungen erwähnte agglutinationsbefördernde Wirkung der Alkalien. Diese verbinden sich nämlich mit Hämoglobin, das ja nebenbei bemerkt immer als säureartiger Körper angesehen wurde[1]), welcher mit Basen Verbindungen eingehen kann (es ist z. B. in verdünnten Laugen leichter löslich als in Wasser), — und machen so das Stroma für den Angriff des Ricins frei.

Auch der früher erwähnte Umstand, dafs ein Überschufs von Alkali wieder verzögernd wirkt, dafs es also ein Optimum der Alkalimenge für die Agglutination gibt, ist erklärlich, da ein solcher Überschufs selbstverständlich dem Zustandekommen der Stromaricinverbindung infolge der gesteigerten Massenwirkung des Alkali entgegenwirken mufs.

Die Annahme einer chemischen Verbindung zwischen Blutfarbstoff und gewissen Bestandteilen des Stroma ist übrigens nichts Neues.

Schon F. Hoppe-Seyler[2]) hat auf die Notwendigkeit aufmerksam gemacht, die arteriellen Blutfarbstoffe von ihren Spaltungsprodukten, den Oxyhämoglobinen, die venösen von den Hämoglobinen zu unterscheiden.

Hoppe-Seyler macht folgende Bemerkungen:

---

[1]) S. auch E. Abel und O. v. Fürth. Chemiker-Zeitung 1906, Nr. 44 (Referat).

[2]) Physiologische Chemie III, 1881, S. 380; ferner: »Beiträge zur Kenntnis der Eigenschaften d. Blutfarbstoffe«, Zeitschr. für physiologische Chemie 13 (1889), S. 477.

1. Das in den roten Blutkörperchen enthaltene Oxyhämoglobin gibt beim Evakuieren den locker gebundenen Sauerstoff viel leichter und vollständiger ab, als reines Hämoglobin. Reine Oxyhämoglobinlösungen zersetzen sich teilweise, so dafs man bei Evakuieren nie die aus der Zusammensetzung berechnete Quantität Sauerstoff (167,39 ccm Sauerstoff von 0° und 760 mm Druck für 100 g Oxyhämoglobin) erhält, sondern stets weniger (die Hälfte bis zwei Drittel), ein Teil des Oxyhämoglobinsin Methämoglobin übergeht und ein dem fehlenden Reste fast entsprechendes Volumen von CO_2 entwickelt wird.

2. Dafs der Farbstoff in den Blutkörperchen nicht in einfacher Lösung, sondern wohl in engerer chemischer Verbindung steht, deren Zerlegung bei Zusatz von Wasser, Chloroform, Äther geschieht, ist auch durch andere Erscheinungen deutlich. Bestände eine solche Verbindung nicht, so wäre es unverständlich, dafs Blutkörperchen mit neutralen Salzlösungen gewaschen werden können, ohne an Farbstoff einzubüfsen, während der freie Farbstoff in diesen Salzlösungen doch stets löslich ist.

Wahrscheinlich ist das in Ather und Chloroform lösliche Lecithin mit dem Oxyhämoglobin in lockerer chemischer Verbindung in den roten Blutkörperchen enthalten.

Hämoglobin in wässeriger Lösung nimmt den Sauerstoff auf, aber die hierdurch entstandene Verbindung gibt den Sauerstoff viel schwieriger ab, als das Arterin, so dafs die Übertragung aus der Luft in die Organe viel unvollkommener erfolgen würde, als sie in Wirklichkeit durch die roten Blutkörperchen geschieht.

Wäre Oxyhämoglobin in den roten Blutkörperchen als solches enthalten, so würde auch eine Erholung nach CO-Vergiftung kaum möglich sein, da durch den Sauerstoff der Luft CO-Hämoglobin viel schwieriger zerlegt wird, als die CO-Verbindung des Phlebins (Farbstoff des venösen Blutes).

Ich habe diese Erwägungen ausführlich zitiert, um zu zeigen, dafs in der Tat schwerwiegende Gründe für die in Rede stehende Annahme sprechen.

Ich glaube auch, dafs hier dem Lecithin eine wesentliche Rolle zukommt, denn folgende Beobachtungen sprechen dafür.

Ich habe kristallisiertes Hämoglobin mit Lecithin unter Zusatz von etwas physiologischer NaCl-Lösung innig verrieben und gesehen, dafs diese bräunliche, trübe Flüssigkeit filtriert ein farbloses Filtrat gibt. Es mufste also das Hämoglobin vom Lecithin zurückgehalten worden sein, da ja Hämoglobin allein leicht löslich ist und durchs Filter geht.

Noch eklatanter fällt das Resultat aus, wenn man sich einerseits mit physiologischer NaCl-Lösung eine intensiv dunkel gefärbte Hämoglobinlösung, anderseits aus genügenden Mengen Lecithin gleichfalls mit physiologischer NaCl-Lösung eine Emulsion herstellt, dann beide Flüssigkeiten zusammengiefst und nach tüchtigem Durchschütteln filtriert. Das Filtrat ist fast farblos oder schwach gelblich, ungefähr wie das Filtrat der Lecithinemulsion allein.

Aus alledem mufs wohl geschlossen werden, dafs das Lecithin zu Hämoglobin eine gewisse Affinität besitzt, die ich nicht einmal schwach nennen kann, da die so entstandene Substanz (Lecithinhämoglobin) durch sehr verdünnte $\left(\frac{n}{100}\right)$ Salzsäure nicht gar so leicht, wenn auch immerhin zerlegt werden kann.

Wenn nun auch dieses und manches andere, worauf ich hier als nebensächlich nicht näher eingehen will, für eine Verbindung von Lecithin mit Hämoglobin spricht, so möchte ich doch nicht behaupten, dafs andere Bestandteile des Stroma dabei keine Rolle spielen, und zwar besonders aus dem Grunde nicht, weil es mir nicht gelungen ist, die Erscheinungen, wie sie sich bei Zusatz von Ricin zu Blutkörperchen-Emulsion darbieten, mit Lecithinhämoglobin nachzuahmen. Die mitunter zu beobachtende flockige Ausscheidung bei Zusatz einer Ricinlösung kann nur als Fingerzeig dafür gelten, dafs bei der Agglutination neben anderen Bestandteilen des Stroma auch das Lecithin eine Rolle spielen dürfte.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

II. Beziehungen zwischen Hämagglutination und Hämatolyse.

Von

L. v. Liebermann.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Budapest.)

Als Konsequenz der in der vorstehenden Abhandlung begründeten Auffassung der Ricinhämagglutination ergibt sich, daſs diese von einer Hämatolyse begleitet oder gefolgt sein muſs, da ja das Hämoglobin aus seiner Verbindung mit dem Stroma durch Ricin freigemacht wird.

Daſs tatsächlich auch Hämatolyse auftritt, haben auch schon andere bemerkt, die sich mit diesen Dingen beschäftigt haben.

Es läſst sich aber ferner auch noch zeigen, daſs die Hämatolyse, wie dies nach der oben erwähnten Anschauung zu erwarten ist, bei Zusatz steigender Mengen von Ricin immer stärker wird, bis zu einer bestimmten Grenze, welche erreicht wird, wenn der Vorrat an Blutkörperchen zur Bindung weiterer Ricinmengen nicht mehr ausreicht.

Als Beweis mögen einige Versuche mit 5 proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion (gewaschene Blutkörperchen!) dienen:

Tropfen.

	Blutkörp.-Emulsion	0,25 proz. Ricin-Lösung	10 proz. NaCl-Lösung
I.	10	1	9
II.	10	2	8
III.	10	4	6
IV.	10	6	4
V.	10	8	2
VI.	10	10	0
VII.	10	0	10 (Kontrolle)

Nach eingetretener Agglutination wurde tüchtig durchgeschüttelt; dann kamen alle sieben Eprouvetten in den Thermostaten (37°). Nach etwa 3 Stunden wurde nach abermaligem Durchschütteln zentrifugiert.

I. und VII. nur sehr schwach gefärbt. II. bis VI. gradatim ansteigende Rotfärbung.

Tropfen.

	Blutkörp.-Emulsion	3 proz. Ricin-Lösung	physiol. NaCl-Lösung
I.	10	1	9
II.	10	2	8
III.	10	4	6
IV.	10	6	4
V.	10	8	2
VI.	10	10	0
VII.	10	0	10 (Kontrolle)

Die Proben wurden so wie vorher behandelt.

VII. (Kontrolle) kaum gefärbt. Von I. bis IV. ansteigende Rotfärbung. IV. schon blutrot. V. und VI. zeigen keine weitere Veränderung. Hier war die Hämatolyse schon fast ganz komplet. Mit 6 Tropfen 3 proz. Ricinlösung war also die oben erwähnte Grenze der Hämatolyse erreicht.

Da bei manchen Versuchen in den abzentrifugierten Lösungen auch quantitative Hämoglobinbestimmungen mit dem Fleischlschen Hämometer (in gelbbraunem Lichte) ausgeführt wurden, will ich, um zu zeigen, wie grofs die Differenzen sind, auch noch einen solchen Versuch mitteilen.

Tropfen.

	Blutkörp.-Emulsion	0,25 proz. Ricin-Lösung	10 proz. Na Cl-Lösung
I.	10	2	10
II.	10	4	8
III.	10	6	6
IV.	10	8	4
V.	10	10	2
VI.	10	12	0
VII.	10	0	12

Um genügend Flüssigkeit zu haben, wurde jeder Eprouvette noch 1 ccm physiologische Na Cl-Lösung zugesetzt.

2 Stunden im Thermostaten bei 37°. Nachher tüchtig durchgeschüttelt, zentrifugiert.

Hämoglobingehalt von I. = 33 der Hämometerskala.
» » II. = 83 » »
» » III. = 82 » »

IV., V., VI. zeigten dasselbe wie II. und III.

Es war also das Maximum der Hämotolyse schon in II. erreicht. Bei einer Vermehrung der Ricinlösung von 2 auf 4 Tropfen stieg die Hämatolyse auf das mehr als 2,5 fache.

Von sonstigen Beobachtungen sei erwähnt, dafs in den Zentrifugenrückständen ausgelaugte, gräulich-weifse Stromaanhäufungen in um so gröfserer Menge zu sehen waren, je ausgiebiger die Hämatolyse war und dafs starke, 2,5 proz. und noch mehr 3 proz. Ricinlösungen auch schon deutliche Methämoglobinbildung hervorriefen.

Aus all den Versuchen ergab sich mit Evidenz, dafs hier Hämagglutination und Hämatolyse durch ein und dieselbe Substanz bedingt, nur zwei Stadien derselben Reaktion darstellen.

Es soll nun ferner betont werden, dafs Säuren, wie bekannt, im allgemeinen Hämatolyse bewirken, was sich in derselbe Weise wie die Ricinwirkung erklärt. Der Säurerest verbindet sich mit dem Stroma und das Hämoglobin wird frei.

Aber auch Alkalien wirken hämatolytisch, wie ja dies bei der Annahme, dafs das Stroma und Hämoglobin in den

Blutkörperchen eine salzartige Verbindung darstellen, selbstverständlich ist. Es mufs hier nämlich der umgekehrte Prozefs wie bei der Wirkung von Säuren eintreten, indem sich nun das Hämoglobin mit dem Alkalimetall verbindet und das Stroma frei wird.

Es besteht aber ein beträchtlicher Unterschied zwischen der Intensität und Raschheit, mit der die Hämatolyse — der Übergang des Hämoglobins in die Lösung — bei Zusatz von Säuren und bei Zusatz von Alkalien in Erscheinung tritt, wovon man sich leicht überzeugen kann, wenn man äquivalente, mit physiologischer NaCl-Lösung bereitete Säure- bzw. Alkalilösungen mit gleichen Mengen Blutkörperchen-Emulsion zusammenbringt. Die Säuren, auch Kohlensäure, wirken viel intensiver hämatolytisch, doch ist eine saure Reaktion der Flüssigkeit nicht nötig, um Hämatolyse zu bewirken, sondern es genügt eine Herabsetzung der Hydroxylionenkonzentration.

Versetzt man z. B. je 20 Tropfen Schweineblutkörperchen-Emulsion mit 10 Tropfen $\frac{n}{100}$ HCl in physiologischer NaCl-Lösung, resp. mit 10 Tropfen $\frac{n}{100}$ NaOH gleichfalls in physiologischer NaCl-Lösung, schüttelt um und zentrifugiert nach etwa 5 Minuten ab, so ist die Säure enthaltende Flüssigkeit schon rötlich gefärbt, während die andere kaum gefärbt erscheint. Nach kurzem Aufenthalt im Thermostaten ist die abzentrifugierte, säurehaltige Flüssigkeit intensiv rot (mit bräunlichem Stich), der Rückstand weifsliches Stroma, die alkalihaltige aber nur schwach gefärbt, der Rückstand schleimig zähe.

Im Beginne der Einwirkung der Säure oder bei sehr wenig Säure findet auch Agglutination statt (kenntlich an der Konsistenz des Zentrifugenrückstandes, welche vom Rückstand zentrifugierter Blutkörperchen-Emulsion völlig verschieden ist), diese agglutinierten Massen zerfallen aber bei weiterer Einwirkung recht bald.

Ein Erklärungsversuch wäre folgender:

Es kann sein, dafs das Alkali, welches ja eiweifsartige oder solchen nahestehende Körper bekanntlich stark zum Quellen

bringt, auch zunächst auf die Oberfläche der Blutkörperchen eine solche Wirkung entfaltet und dafs die so entstandene gequollene Hülle ein tieferes Eindringen des Alkali verhindert oder nur langsam gestattet, so dafs sich das Entstehen der neuen Verbindung mehr auf die Oberfläche der Blutkörperchen beschränkt. Die Folge wäre ein wesentlich geringeres Mafs der Blutkörperchenzersetzung und Verringerung der Menge des in Lösung gehenden Hämoglobins.

Diese Vorstellung erleichtert gleichzeitig das Verständnis der Agglutinationserscheinung, denn es ist ja klar, dafs die gequollenen Hüllen der Blutkörperchen diese zum Verkleben viel geeigneter machen müssen.

Es ergibt sich aber ferner aus dieser Betrachtung die wichtige Folgerung, dafs alles, was die Quellung befördert, also was den Gehalt an freiem Alkali — die Hydroxylionenkonzentration — vermehrt, das Auftreten der Agglutinationserscheinung begünstigen, eine Verminderung des Alkaligehaltes aber die Agglutination weniger, dafür aber mehr die Hämatolyse befördern mufs. Die agglutinationsfördernde Wirkung des Alkali äufserte sich freilich nur unterhalb einer gewissen Grenze, da von einer bestimmten Konzentration aufwärts die Blutkörperchen durch die Lauge zerstört werden.

Das soeben Gesagte wird bestätigt durch meine Versuche über die befördernde Wirkung der Natronlauge auf die Ricinagglutination und der Säuren auf die Ricinhämatolyse, ferner durch meine vielfach gemachte Beobachtung, dafs Blutkörperchen-Emulsionen, denen etwas Alkali zugesetzt wurde (sehr wenig, einige Tropfen $\frac{n}{100}$ NaOH in physiologischer NaCl-Lösung zu etwa 2 ccm Emulsion), einen agglutinierten Zentrifugenrückstand geben, von dem die Lösung klar und leicht abgegossen werden kann, und der sowohl makro- als mikroskopisch das typische Verhalten kräftig agglutinierter Blutkörperchen zeigt.

Man mufs sich aber hüten, die Sache ganz schroff, etwa in der Weise aufzufassen, dafs etwa nur dort, wo freies Alkali vor-

handen, Agglutination und nur dort, wo freie Säure zugegen, Hämatolyse auftreten könnte. Das ist durchaus nicht der Fall, denn in beiden Fällen kann sowohl Agglutination als Hämatolyse auftreten. Auch Säuren bringen eiweifsähnliche Körper zum Quellen und zur Agglutination, wie ja das letztere auch durch das Verhalten des Ricins bewiesen wird. Nur darin besteht ein Unterschied, dafs bei Gegenwart von freiem Alkali mehr die Agglutination, bei Gegenwart freier Säure aber mehr die Hämatolyse in den Vordergrund tritt, wofür ich oben eine Erklärung versucht habe. Es ist das die notwendige Folge meiner Auffassung, dafs Hämagglutination und Hämatolyse eine gemeinsame Ursache haben, die chemische Zersetzung der Blutkörperchen in ihre zwei Hauptbestandteile: Stroma und Hämoglobin. Dabei ist aber wohl zu bemerken, dafs zwar Hämatolyse auch ohne vorhergehende Agglutination stattfinden kann, wenn die neuentstandene Stromasäureverbindung wenig Neigung zum Quellen und zum Klebrigwerden hat, wie das der Fall ist, wenn gröfsere Mengen stark dissoziierender Säuren einwirken; dafs aber umgekehrt Agglutination ohne nachfolgende Hämatolyse nicht stattfindet. Wo man solches dennoch zu sehen glaubt, handelt es sich um eine Täuschung, deren Ursache darin zu finden ist, dafs man dem Hämoglobin nicht genügend Zeit liefs, aus der gequollenen agglutinierten Masse hinauszudiffundieren, und dafs die Menge desselben auch zu gering sein kann, um die Hämatolyse, bei nicht sehr genauer quantitativer Bestimmung, deutlich erkennen zu lassen, gering darum, weil sich die chemische Veränderung der Blutkörperchen, wie schon früher erwähnt wurde, bei stark agglutinierenden Körpern, ferner bei zu geringer Menge derselben und bei zu kurzer Zeit mehr auf ihre Oberfläche beschränken dürfte. Auch daran ist zu erinnern, dafs bei starker Agglutination die Oberfläche, welche die Blutkörperchen der umgebenden Flüssigkeit bieten, ganz aufserordentlich verringert wird, was den Übertritt des freigewordenen Hämoglobins in die Flüssigkeit beträchtich verzögert.

Zum Schlusse noch eine naheliegende Frage.

Wie ist die hämatolytische Wirkung des destillierten Wassers zu erklären?

Ich fasse diese Art von Hämatolyse als Hydrolyse auf, welche jedesmal auftritt, wenn eine aus einer schwachen Säure und einer Base bestehende Verbindung mit Wasser zusammenkommt. Es kann aber kein Zweifel darüber bestehen, dafs die Verbindung von Hämoglobin und Stroma nur eine derartige sein kann. Die Verbindung der roten Blutkörperchen Arterin resp. Phlebin wird also durch Wasser, welches in die Blutkörperchen dringt, in Hydroxylverbindung des hier wirksamen Stromabestandteiles und in die Hämoglobinwasserstoff-Verbindung (Hämoglobinsäure, vulgo Hämoglobin) zerlegt, ebenso wie z. B. kohlensaures Kalium bei Einwirkung von Wasser teilweise in KOH und H_2CO_3 zerfällt.

Die Hämatolyse durch destilliertes Wasser ist also ein Vorgang, der mit Osmose beginnt und mit Hydrolyse endigt.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

III. Uber die Wirkung von Kieselsäure auf rote Blutkörperchen.

Von

L. und P. v. Liebermann.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Budapest.)

Auf die agglutinierende Wirkung der Kieselsäure hat zuerst R. Koberts Schüler A. Siegfried[1]) aufmerksam gemacht, der sie in Form ihrer Salze verwendet hat. Er fand auch, dafs die Agglutination der roten Blutkörperchen unter Umständen von Hämatolyse begleitet ist, und fafst letztere als einen sekundären Prozefs auf.

Später haben bekanntlich Landsteiner und Jagič[2]) die Wirkung der kolloidalen Kieselsäure untersucht, dasselbe gefunden, aber auch noch angegeben, dafs das Lecithin mit Kieselsäure bei Gegenwart von Kochsalz eine die Hämatolyse befördernde Verbindung eingeht.

Auch wir haben diese Versuche mit vollständig ausgewaschener in physiologischer NaCl-Lösung suspendierter kolloidaler Kieselsäure ohne Lecithin nachgemacht unter Anwendung von 5proz. Kaninchen-Blutkörperchen-Emulsion, und nach etwa $^1/_2$stündigem Stehenlassen der Mischungen im Thermostaten bei

1) R. Kobert, Lehrb. d. Intoxikationen. II. Bd. (1903.) S. 714.

2) Wiener klin. Wochenschr., 1904, Nr. 3. Münch. med. Wochenschr., 1904, Nr. 27.

37° gefunden, dafs die Agglutination, wie auch die soeben zitierten Autoren angeben, stets von Hämatolyse begleitet ist, wenn man nur dafür sorgt dafs die agglutinierten Massen gut zerschüttelt werden, ferner, dafs die Hämatolyse mit steigenden Mengen von Kieselsäure steigt, ja dafs sie vollständig wird, so dafs der abzentrifugierte Rückstand hämoglobinfrei erhalten werden kann, was Landsteiner und Jagič nicht bemerkt haben, weil sie den Einflufs steigender Mengen Kieselsäure nicht in den Kreis ihrer Versuche gezogen hatten.

Wir haben ferner gefunden, dafs es auch hier das Stroma ist, mit welchem sich die Kieselsäure zunächst verbindet. Die abzentrifugierte Hämoglobinlösung kann keine beträchtlicheren Mengen derselben enthalten, weil das Hämoglobin aus einer solchen Lösung durch die oben erwähnte Suspension von Kieselsäure ausgefüllt wird.

Dies ist auch der Grund für eine Beobachtung, die wir anfangs nicht gleich erklären konnten. Wir fanden nämlich, dafs über eine gewisse Grenze hinaus bei steigendem Kieselsäurezusatz die Hämatolyse wieder schwächer wird. Dies ist aber nach dem oben Mitgeteilten nur scheinbar der Fall. Die schwächere Hämatolyse wird durch eine partielle Ausfällung des Hämoglobins nur vorgetäuscht.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

IV. Über die hämatolytische Wirkung des Guajaksaponins.

Von

L. und P. v. Liebermann.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Budapest.)

Schon vor längerer Zeit hat R. Kobert die hämatolytische Wirkung der Saponinsubstanzen entdeckt. Diesen Gegenstand haben auch mehrere seiner Schüler, zuletzt Walter Friboes, verfolgt, der sich besonders eingehend mit den Guajaksaponinen befafst hat.[1])

Zu unseren Versuchen verwendeten wir das sog. »neutrale Guajaksaponin«, bezogen von E. Merck in Darmstadt, wollen aber gleich bemerken, dafs dieses Präparat nicht neutral, sondern sauer reagiert.

Wir versetzten zunächst 20 ccm einer 5 proz. Kaninchenblutkörperchen-Emulsion[2]) mit 1 ccm einer 1 proz., mit physiologischer NaCl-Lösung bereiteten Saponinlösung. Schon nach kurzer Zeit war vollständige Hämatolyse eingetreten.

Die lackfarbige Lösung wurde zentrifugiert und die zurückgebliebene Stromata mit physiologischer NaCl-Lösung, gleichfalls

1) Beiträge zur Kenntnis der Guajacpräparate. Von Walther Friboes. Mit einem Vorworte von R. Kobert. Stuttgart, 1903.

2) Wie immer bei unseren Versuchen ist hier eine Blutkörperchen-Aufschwemmung in phys. Na Cl zu verstehen, welche keine Serumbestandteile enthält, sondern aus gründlich gewaschenen Blutkörperchen in der Weise dargestellt wird, dafs sie in 100 ccm die reinen Blutkörperchen von 5 ccm Blut enthält.

durch Zentrifugieren, gewaschen. Sie waren nun absolut hämoglobinfrei. Mit etwas physiologischer NaCl aufgenommen und nach Zusatz einer Spur von sehr verdünnter Schwefelsäure erhält man eine trübe Flüssigkeit, die beim Schütteln stark schäumt, während eine ebenso behandelte Flüssigkeit, die aber nur Stromata enthält, welche aus Blutkörperchen-Emulsion mit destilliertem Wasser bereitet werden, nicht schäumt.

Dies war ein Fingerzeig, dafs das Saponin an die Stromata gebunden war, da eine der charakteristischen Eigenschaften der Saponine eben das Schäumen ist. Um uns aber mit Sicherheit zu überzeugen, ob das Saponin wirklich und vollständig gebunden wird, also bei der Reaktion verschwindet, haben wir Blutkörperchen-Emulsion mit einer zur vollständigen Hämatolyse ungenügenden Menge von Saponin versetzt, von den unangegriffenen Blutkörperchen abzentrifugiert, die abzentrifugierte Flüssigkeit mit einer frischen Portion Blutkörperchen versetzt und durch quantitative Hämoglobinbestimmung festgestellt, dafs keine weitere Lösung von Hämoglobin stattgefunden hat.

5 ccm 100 proz. Kaninchenblutk.-Emulsion wurden mit 0,25 ccm einer 1 proz. Saponinlösung (mit physiologischer NaCl-Lösung bereitet) versetzt, mit physiologischer NaCl auf 10 ccm verdünnt und zentrifugiert. Die abzentrifugierte Flüssigkeit wollen wir mit A bezeichnen.

Nun wurden vier Proberöhrchen in folgender Weise beschickt:

1. 2 ccm A + 2 ccm physiologischer NaCl-Lösung,
2. 2 ccm A + 2 ccm 5 proz. Kaninchenblutkörperchen-Emulsion,
3. 2 ccm 5 proz. Kaninchenblutkörperchen-Emulsion + 2 ccm physiologischer NaCl-Lösung, welche dieselbe Menge Saponin enthält, welche 2 ccm A enthalten mufsten, falls das Saponin nicht verbraucht werden sollte. Es war diese Kontrolle notwendig, um zu wissen, ob das Saponin in dieser Menge noch genügend wirkt.
4. 2 ccm 5 proz. Blutkörperchen-Emulsion + 2 ccm physiologischer NaCl-Lösung. Diese Kontrolle war notwendig,

weil die schon etwas gestandene Blutkörperchenlösung selbst etwas hämatolysiert war.

Die Bestimmungen in den abzentrifugierten Flüssigkeiten geschahen mit dem Fleischl-Miescherschen Hämometer unter den Kautelen, wie sie der eine von uns empfohlen hat.[1]) Die Mittel aus 10 gut stimmenden Ablesungen waren folgende:

1. 64 Grade,
2. 88 »
3. 111 »
4. 33 »

Wird Nr. 4 von Nr. 2 abgezogen (88 — 33), so bleiben 55 Grade. Ein Zusatz von frischen Blutkörperchen zu A hat also keine Vermehrung des gelösten Hämoglobins bewirkt. Es war also bei der Reaktion alles Saponin verbraucht worden.

Es sollte nun mit möglichster Genauigkeit bestimmt werden, ob das Saponin ausschliefslich vom Stroma der Blutkörperchen gebunden wird, oder ob dies auch das Hämoglobin imstande ist? Von der Antwort auf diese Frage hing es nämlich ab, ob es gestattet ist, den Mechanismus der Saponinwirkung für einen der Ricinwirkung ähnlichen zu halten. Die Versuche haben ergeben, dafs dies, trotz der äufserlichen Verschiedenheit der beiden Reaktionen (Saponin bewirkt keine sinnfällige Agglutination) wirklich der Fall ist, dafs also das Saponin das Arterin (Phlebin) in ähnlicher Weise zersetzt, wie es das Ricin tut.

Wir verfuhren auf folgende Weise: 3 ccm 100proz. Kaninchenblutkörperchen-Emulsion wurden mit destilliertem Wasser auf 50 ccm verdünnt. Die vollständig lackfarbene Flüssigkeit wurde mit soviel Kochsalz versetzt, dafs sie einer 0,9proz. NaCl-Lösung entsprach, dann zentrifugiert und das Stroma vollständig entfernt.

Von der abgegossenen Hämoglobinlösung wurden 30 ccm mit 0,15 g Saponin versetzt, also mit soviel, dafs sie einer $^1/_2$proz. Saponinlösung entsprach. Nun wurde die Wirkung dieser

1) Siehe L. v. Liebermann, Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 7. (Anmerkung.)

½ proz. Hämoglobin-Saponinlösung auf frische Blutkörperchen mit der einer gleichfalls ½ proz. Saponin enthaltenden physiologischen Kochsalzlösung verglichen, indem wir zu 6 ccm Blutkörperchen-Emulsion je 0,25 ccm der erwähnten, bezüglich ihres Saponingehaltes gleich konzentrierten Lösungen zusetzten. (Die Menge von 0,25 ccm war durch vorausgehende Bestimmungen als diejenige ermittelt, welche nach ¾ stündigem Stehen bei Zimmertemperatur 6 ccm der 5 proz. Blutkörperchen-Emulsion noch nicht vollständig zu hämatolysieren imstande war.) War nun das Saponin vom Hämoglobin nicht gebunden worden, so mufste der Zuwachs an gelöstem Hämoglobin in der Mischung, welche mit Hämoglobin bereitete Saponinlösung enthielt, ungefähr ebensoviel betragen, als die Hämoglobinmenge beträgt, welche durch die reine (nicht hämoglobinhaltige) gleich konzentrierte Saponinlösung freigemacht wurde.

Nach etwa ¾ stündigem Stehen der Mischungen bei Zimmertemperatur wurde zentrifugiert, die Lösungen wurden von dem klebrigen, roten, festhaftenden Rückstand klar abgegossen und es wurde ihr Hämoglobingehalt mit dem Fleischl-Miescherschen Hämometer bestimmt.

Zur Kontrolle haben wir auch den Hämoglobingehalt einer Lösung bestimmt, welche aus 6 ccm Blutkörper-Emulsion mit 0,25 ccm derselben Hämoglobinlösung, welche zur Bereitung der ½ proz. Hämoglobin-Saponinlösung diente, durch Zentrifugieren erhalten wurde und vorher gleichlange wie die anderen Mischungen gestanden war, da ja der Hämoglobingehalt dieser letzteren bekannt sein mufste. Das Resultat war folgendes:

1. Hämoglobingehalt der Mischung mit reiner Saponinlösung = 190 Grade,
2. Hämoglobin-Saponinlösung = 211 Grade,
3. Hämoglobinlösung ohne Saponin = 28 Grade.

1. und 2. mufsten wegen zu starker Hämoglobingehalte mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt werden. Die angegebenen Zahlen wurden durch Multiplikation mit 2 erhalten. — Wird nun 3. von 2. abgezogen, so erhalten wir:

1. = 190,
2. = 183.

Bei dreifacher Verdünnung bestimmt, erhielten wir, auf ursprüngliche Konzentration umgerechnet:

1. = 207,
2. = 238,
3. = 22 (neuerdings bestimmt).

Wird 3. von 2. abgezogen, so haben wir:

1. = 207,
2. = 216.

Man sieht: die Differenzen bewegen sich innerhalb der bei dieser Methode möglichen Versuchsfehler.

Man kann also mit Bestimmtheit aussprechen, dafs bei der Wirkung des neutralen Guajaksaponins auf Blutkörperchen dasselbe geschieht, wie bei der Wirkung des Ricins: das Saponin verbindet sich nur mit dem Stroma, nicht aber mit dem Hämoglobin.

Es war nun interessant, weiter zu untersuchen, ob Alkalien auch bei der Saponinwirkung der Hämatolyse entgegenwirken?

Dies ist in der Tat der Fall. Versetzt man 0,5 ccm einer $^1/_2$ proz. Saponinlösung (mit physiologischer NaCl bereitet) mit 2 ccm einer $\frac{n}{100}$ gleichfalls mit physiologischer NaCl-Lösung bereiteten Natronlauge und 3 ccm einer 5 proz. Kaninchenblutkörperchen-Emulsion, so findet innerhalb einer Stunde kaum Hämatolyse statt (erst nach längerer Zeit ist solche zu bemerken), während ohne Zusatz von Natronlauge die Hämatolyse in sehr kurzer Zeit — sie zählt nur nach Minuten — vollständig ist.

Ganz ebenso wird die Saponin-Hämatolyse auch durch Blutserum (Kaninchenserum) verhindert. Verwendet man statt 2 ccm $\frac{n}{100}$ Natronlauge 0,6 ccm normales Kaninchenblutserum, eine Menge, deren titrirbarer Alkaligehalt ungefähr dem Alkaligehalt von 2 ccm $\frac{n}{100}$ Natronlauge entspricht,

so wird die Hämatolyse gleichfalls verhindert. Aber auch schon die Hälfte der Serummenge genügt, woraus folgt, dafs auch noch andere Bestandteile hier eine Rolle spielen.[1])

In dieser Beobachtung sehen wir eine weitere Bestätigung der Ähnlichkeit des Mechanismus der bisher von uns studierten Agglutinations- und hämatolytischen Phänomene, wenn sie auch äufserlich durch Vorwalten der einen oder der andern Wirkung verschieden scheinen.

Unsere, die Saponinhämatolyse hemmende Wirkung des Blutserums betreffende Beobachtung glauben wir zur Erklärung eines Widerspruchs verwenden zu können, der zwischen unseren Angaben und denjenigen von Walter Friboes besteht, der gefunden hat, dafs dem neutralen Guajaksaponin kaum irgendwelche hämatolytische Wirkung zukommt[2]); denn Friboes hat das Saponin auf Blutkochsalzmischungen, also auf serumhaltige Gemische, nicht aber auf gewaschene Blutkörperchen einwirken lassen.

Unsere Versuche haben aber gezeigt, dafs die erwähnte hemmende Wirkung des Serums zu einer Erklärung nicht genügt; denn erstens ist sie nur eine — allerdings beträchtlich — verzögernde, indem z. B. 2 ccm 5proz. Kaninchenblutkochsalzlösung mit 0,5 ccm einer $^1/_2$proz. Saponinkochsalzlösung versetzt, erst nach einer Stunde deutliche, aber noch lange nicht vollständige Hämatolyse zeigt, während eine 5proz. Blutkörperchen-Emulsion vom selben Blutkörperchengehalt (aus gewaschenen Blutkörperchen bereitet) schon nach wenigen Minuten durch dieselbe Menge Saponin vollständig hämatolysiert wird; zweitens ist ein Unterschied zwischen Blut- resp.

1) Nach einer Angabe von Ransom (Deutsche med. Wochenschr. 1901) schützt das Cholesterin des Blutserums die Blutkörperchen vor dem Angriff des Saponins. Bei Versuchen mit Schweineblutkörperchen und Guajaksaponin (ungiftiges) konnte ich eine derartige schützende Wirkung nicht beobachten, mochte ich nun Cholesterin direkt in der Saponinlösung verteilen, oder es der Saponinlösung in Form einer Emulsion zufügen, wie man eine solche erhält, wenn man Cholesterine in Alkohol löst und die Lösung mit viel phys. Kochsalzlösung versetzt.

2) a. a. O.

Blutkörperchenkochsalzmischungen gar nicht wahrzunehmen (und wenn ja, noch eher zugunsten der Blutmischungen, welche mitunter noch rascher hämatolysiert werden), wenn man Mengenverhältnisse nimmt, wie sie Friboes angewendet hat; z. B. 10 ccm 5 proz. Kaninchenblutkochsalzmischung + 1 ccm 10 proz. Saponinlösung. Wir haben solche Versuche mit Kaninchen- und Schweineblut resp. mit Blutkörperchen-Emulsionen aus diesen Blutarten gemacht. Alles wurde, wie schon erwähnt, in wenigen Minuten und fast gleich schnell vollkommen hämatolysiert.

Es bleibt also nichts anderes übrig, als anzunehmen, dafs unser Saponinpräparat (von der Merckschen Fabrik als neutral und ungiftig bezeichnet) von demjenigen verschieden ist, welches Friboes in Händen hatte. Dafür spricht auch der schon erwähnte Umstand, dafs unseres sauer reagierte, während Friboes ausdrücklich sagt, dafs sein Präparat neutral war.[1])

An eine Verwechslung mit Guajaksaponinsäure, welche auch nach Friboes sauer reagiert, ist nicht zu denken, denn auch diese besitzt, nach dem genannten Autor, nur geringes hämatolytisches Vermögen, während unseres schon in minimalen Mengen äufserst wirksam ist.

Wir glauben unsere Mitteilung nicht schliefsen zu dürfen, ohne besonders zu betonen, dafs es nach unseren Erfahrungen nicht ratsam ist, zu hämatolytischen Versuchen statt Blutkörperchen-Emulsionen aus gewaschenen Blutkörperchen einfach Blutkochsalzmischungen zu verwenden, wie das so häufig geschieht, in der Voraussetzung, dafs die geringe Serummenge, welche z. B. in einer 5 proz. Blutkochsalzmischung bleibt, zu gering wäre, um das Resultat zu beeinflussen. Wir haben oben bei unseren Versuchen mit $\frac{1}{2}$ proz. Saponinlösungen gezeigt, dafs dies nicht immer zutrifft.

1) a. a. O., S. 60.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

V. Über hämatolytische Sera. Wirkung von Säure und Alkali.

Von

L. v. Liebermann.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Budapest.)

Die in den vorstehenden Mitteilungen beschriebenen Versuche über die Wirkung des Ricins, der Kieselsäure und des Guajaksaponins auf rote Blutkörperchen haben folgendes gezeigt:

Erstens, dafs bei der Agglutination, welche die erstgenannten zwei Stoffe bewirken, eine Zersetzung des Arterins (Phlebins) stattfindet, so dafs die entsprechenden Verbindungen zwischen Stroma und jenen Körpern zustande kommen und dafs hierbei das Hämoglobin frei wird, welches nun in die umgebende Flüssigkeit vollständig diffundieren kann, wenn die agglutinierte Masse nur genügend zerteilt durchgeschüttelt wird, damit durch die genügend feine Verteilung, die eine möglichst grofse Oberfläche schafft, für die Diffusion des Hämoglobins günstige Bedingungen geschaffen werden.

Es gibt also eine Art von Hämatolyse, welche als notwendige Begleiterscheinung der Agglutination aufgefafst werden mufs.

Zweitens wurde beim Studium der Guajaksaponinwirkung gefunden, dafs sich der Mechanismus dieser von dem der Ricin- und Kieselsäurewirkung nicht unterscheidet. Der Unterschied in der Wirkung besteht nur darin, dafs das Saponin ohne auffällige Agglutination sofort Hämatolyse hervorruft.

Es gibt also eine andere Art von Hämatolyse, welche ohne vorhergehende sinnfällige Agglutination, aber ebenfalls ohne Mitwirkung etwa eines dritten Körpers zustandekommt.

Drittens wurde — bei den Ricinversuchen — konstatiert, dafs der Grad der Alkalizität der Flüssigkeit, in welcher die Reaktion abläuft, auf diese von wesentlichem Einflufs sein kann.

Es frägt sich nun: entsprechen diese bisher studierten Vorgänge denjenigen, die wir bei agglutinierenden und hämatolytischen Seris beobachten, oder haben wir es bei diesen mit Wirkungen zu tun, welche auf andere Weise erklärt werden müssen?

Das Studium dieser Frage hat nun gezeigt, dafs man in der Tat berechtigt ist, hier weitgehende Analogien anzunehmen, anderseits aber hat es zur Kenntnis neuer und wie ich glaube, wichtiger Tatsachen geführt, die darauf hinweisen, dafs bei den Wirkungen der Immunsera aufser jenen Prozessen, welche in den Wirkungen des Ricins, der Kieselsäure und des Saponins ein Analogon finden, auch noch Reaktionen anderer Art eine Rolle spielen.

Lapins, deren Serum übrigens, wie schon in der vorstehenden Mitteilung erwähnt wurde, häufig schon normalerweise auf Schweineblutkörperchen wirkende Antikörper enthält, wurden durch subkutane Injektion von 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion (aus mit physiologischer NaCl-Lösung gründlich gewaschenen Blutkörperchen bereitet!) gegen diese immunisiert. An 5—6 aufeinanderfolgenden Tagen werden je 1, höchstens 2 ccm Blutkörperchen-Emulsion injiziert. Vier solche grofse Kaninchen liefern beim Einstich in eine gröfsere Ohrvene, wenn man durch Streichen von der Ohrwurzel gegen die Spitze die Blutung befördert, genügende Mengen Blut. Man erhält so leicht genügendes Material zu solchen Versuchen. Das Blut wird sofort zentrifugiert, und nach einigem Stehen im Eisschranke scheidet sich reines Serum ab, welches klar abgegossen werden kann. Auf dieselbe Weise wurden von nicht immunisierten Lapins Normalsera erhalten.

Die Sera wurden zur Inaktivierung, wie gebräuchlich, $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

Das Resultat der Beobachtungen an den Mischungen, welche sich in den mit römischen Zahlen bezeichneten Eprouvetten befanden, nachdem sie eine Stunde bei 37° im Thermostaten verweilt hatten und dann zentrifugiert wurden, war folgendes:

I.	10 Tropfen	Schweineblutkörperchen-Emulsion	+ 3 Tropfen	inaktives Immunserum.
II.	10 »		+ 6 »	» »
III.	10 »		+ 3 »	aktives »
IV.	10 »		+ 6 »	» »
V.	10 »		+ 3 »	phys. Kochsalzlösung.
VI.	10 »		+ 6 »	» »

I. und II. Zentrifugenrückstand: stark agglutiniert. Unter dem Mikroskope zum grofsen Teile sternförmige, agglutinierte Blutkörperchen, daneben schon reichlich körniger Detritus. Abzentrifugierte Lösung: schwache, rötliche Färbung (Hämatolyse).

III. Starke Agglutination und starke Hämatolyse. Die agglutinierten Massen lassen sich leichter zerschütteln. Mikroskopisches Bild: nicht wesentlich verschieden.

IV. Agglutination makroskopisch kaum mehr zu erkennen. Hämatolyse vollständig, das meiste gelöst. Unter dem Mikroskop nur noch wenige kleine, gefärbte, agglutinierte Gruppen. Sehr viel körniger Detritus.

V. und VI. als Kontrollflüssigkeit geben bezüglich Rotfärbung der Lösung, Agglutination makro- und mikroskopisch negative Resultate.

Dieser Versuch lehrt folgendes:

Inaktiviertes Immunserum agglutiniert, wie dies ja übrigens allgemein bekannt ist.

Hier, wie im folgenden überall, ist jedoch unter Agglutination nicht die prompte, fast einer momentan einstehenden Gerinnung ähnliche Ausscheidung zusammengeballter Blutkörperchen zu verstehen, sondern die eigentümliche Beschaffenheit des Zentrifugierungsrückstandes. Diese ist vom auf gleiche Weise erhaltenen Rückstande einfacher Blutkörperchen-Emulsion wesentlich verschieden. Während nämlich dieser letztere so locker ist, dafs Vorsicht nötig ist, die Flüssigkeit ohne Aufwirbeln der Blutkörperchen klar abzugiefsen und er, unter dem Mikroskope gesehen, aus isolierten Blutkörper-

chen besteht, ist der Rückstand mit Serum behandelter Blutkörperchen fest, klebrig, mehr oder weniger schwer zu zerschütteln; die Flüssigkeit kann leicht vollständig abgegossen werden. Unter dem Mikroskope ist aber das typische Bild zu grofsen Haufen agglutinierter, mehr oder weniger veränderter Blutkörperchen durchaus nicht immer zu sehen. Diese Art schwacher Agglutination könnte man aus praktischen Gründen anders, vielleicht Agglomeration (eine Bezeichnung, die schon Bordet gebraucht) oder sonstwie, nennen, obwohl im Wesen der Reaktion zwischen dieser und der starken — wie wir glauben — kein Unterschied besteht.

Im Gefolge der Agglutination tritt wenn auch schwache Hämatolyse auf, die aber nur dann (aber auch nicht immer!) etwas ausgesprochener erscheint, wenn man gröfsere Mengen und kräftige Sera verwendet und unter öfterem Umschütteln längere Zeit im Thermostaten stehen läfst.

Eine gewisse Ähnlichkeit zwischen dieser und der agglutinierenden Wirkung von Ricin oder Kieselsäure besteht also wahrscheinlich, aber sie wäre allein nicht so grofs, um aus ihr weitergehende Schlüsse zu ziehen.

Wichtiger ist folgendes:

Nach dem Muster meiner Ricinversuche habe ich durch inaktiviertes Kaninchenserum agglutinierten Schweineblutkörperchen durch Behandeln mit sehr verdünnter Salzsäure (mit physiologischer NaCl-Lösung bereitete $\frac{n}{100}$ Säure) den agglutinierenden Körper wieder entzogen, ja, es gelang mir auch nachzuweisen, dafs bei dieser Behandlung auch das wieder abgespalten wird und erhalten werden kann, was man hämolytischen Immunkörper (Ehrlichs Amboceptor) nennt, von dem es einstweilen unentschieden bleibt, ob er mit dem Agglutinin identisch ist oder nicht.

An diesen Arbeiten hat sich später auch mein Assistent Herr v. Fenyvessy beteiligt. Wir werden sie in einem besonderen Artikel beschreiben, da ihre Bedeutung eine eingehende Darstellung erfordert.

Die identische Methode der Isolierung berechtigt schon zur Annahme, dafs das Serumagglutinin (Hämolysin) ein in seinem Verhalten dem Ricin ähnlicher Stoff, also wohl auch wie dieser eine

Säure oder ein Gemenge von säureartigen Körpern sein dürfte, woraus dann weiter folgt, dafs auch der Mechanismus dieser Agglutination ein ähnlicher ist wie bei Ricin, Kieselsäure und Saponin, dafs also das Serumagglutinin das Arterin (Phlebin) in der Weise zersetzt, dafs es sich mit dem Stroma verbindet und das Hämoglobin freimacht.

Dies wird auch dadurch gestützt, dafs ein Zusatz von Säure oder Alkali eine ähnliche Wirkung auf Agglutination bzw. Hämatolyse durch Sera ausübt, wie wir dies bei den Ricinversuchen gesehen haben. Auch bei den hämatolytischen Seris befördert die Vermehrung des Alkali die Agglutination, eine Verminderung desselben eher die Hämatolyse, ohne dafs man aber, wie auch hier betont werden soll, sagen dürfte, dafs Säuren überhaupt keine Agglutination bewirken würden; denn auch sie können, in richtigem Mafse verwendet, eiweifsartige Stoffe zum Quellen bringen, in eine mehr oder weniger klebrige Masse verwandeln, so dafs sie, betreffend den Zentrifugenrückstand, das Bild der Agglutination bieten.

Folgende kleine Tabelle, welche sich auf einen Versuch mit Schweineblutkörperchen-Emulsion und gegen Schweineblutkörperchen immunisiertes inaktiviertes Lapin-Immunserum bezieht, mag die Wirkung steigender Mengen von $\frac{n}{100}$ H Cl (in physiologischer Na Cl-Lösung) beleuchten:

Blutkörp.-Emulsion	Serum	$\frac{n}{100}$ H Cl	0,9% Na Cl-Lösung	Beobachtete Wirkung	
ccm	ccm	ccm	ccm	Agglutination	Hämatolyse
2,0	0,5	2,0	1,5	stark	0
2,0	0,5	2,5	1,0	schwächer	Spuren
2,0	0,5	3,0	0,5	sehr schwach	stärker
2,0	0,5	3,5	0,0	sehr schwach	noch stärker

Was die Wirkung der Alkalien betrifft, so geht dieselbe soweit, dafs, wie im nachfolgenden gezeigt werden soll, eine entsprechende Menge von Alkali hämatolytisches Immunserum auch vollständig zu inaktivieren vermag unter Erhaltung des Agglutinationsvermögens.

Folgende Versuchsreihe mit Serum von Lapins, welche gegen Schweineblutkörperchen immunisiert worden waren, und 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion, bei Anwendung von $\frac{n}{100}$ Natronlauge, welche mit physiologischer Kochsalzlösung bereitet war, soll das Gesagte erhärten:

Proberöhre	Blutkörperchen-Emulsion	aktives Immunser.	NaOH	phys. NaCl
I.	2 ccm	+ 0,5 ccm	+ 0,00 $\frac{n}{100}$	+ 2,9 ccm
II.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,0 ccm	+ 0,9 »
III.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,1 »	+ 0,8 »
IV.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,2 »	+ 0,7 »
V.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,3 »	+ 0,6 »
VI.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,4 »	+ 0,5 »
VII.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,5 »	+ 0,4 »
VIII.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,6 »	+ 0,3 »
IX.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,7 »	+ 0,2 »
X.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,8 »	+ 0,1 »
XI.	2 »	+ 0,5 »	+ 2,9 »	+ 0,0 »

Nach $^3/_4$ stündigem Stehen im Thermostaten sämtlich gleichzeitig zentrifugiert. Die Rückstände bilden überall agglutinierte Massen.

Die klar abgegossenen Flüssigkeiten zeigen folgendes:

I. (aktives Serum ohne NaOH) blutrote Flüssigkeit.

II. kaum gefärbt, ganz schwacher rosenroter Stich.

III., IV., V., VI. } II. sehr ähnlich, kaum zu unterscheiden.

VII., VIII., IX., X., XI. } stufenweise ansteigende Rotfärbung, XI. am stärksten rot, aber noch immer bedeutend schwächer als I.

Hämoglobinbestimmungen, ausgeführt mit dem Fleischl-Miecherschen Apparat:

I. = 113,0 (Immunserum ohne NaOH).
II. = 8,6 (» + 2 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH)
VI. = 9,8 (» + 2,4 » » »)
XI. = 20,0 (» + 2,9 » » »)

Aus diesem Versuche ergibt sich also folgendes:

Durch Vermehrung des Gehaltes an freiem Alkali kann aktives hämatolytisches Immunserum (Lapin gegen Schweineblutkörperchen immunisiert) vollkommen inaktiviert werden.

In diesem Falle genügten für 0,5 ccm 2 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH in physiologischer NaCl-Lösung. Eine weitere Vermehrung des letzteren bewirkt zunächst keine wesentliche Änderung; steigt aber die Menge freien Alkalis über eine gewisse Grenze, welche in diesem Versuch bei etwa 2,4 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH liegt, so tritt wieder, wenn auch schwache, doch fortwährend stärker werdende Hämatolyse auf, weil nun schon die eigene hämatolytische Wirkung des freien Alkalis zur Geltung kommt.[1])

Nun wollte ich noch erfahren, ob der Zusatz von Alkali nicht etwa darum die hämatolytische Wirkung des aktiven Immunserums vernichtete, weil es vielleicht ein hämatolytisches Komplement (Alexin) vernichtet hat. War solches der Fall, so war zu erwarten, dafs es nicht mehr gelingen wird, das durch Alkali inaktivierte Serum durch genaue Neutralisation des zugesetzten Alkalis wieder aktiv zu

---

[1]) Die Wirkung von Natronlauge, wenn sie auf Blutkörperchen-Emulsion allein wirkt, mag folgende kleine Tabelle illustrieren:

Blutkörperchen-Emulsion	$\frac{n}{100}$ NaOH in phys. NaCl-Lösung
I. 20 Tropfen	2 Tropfen
II. 20 »	4 »
III. 20 »	6 »
IV. 20 »	8 »

Nach gleich langem Stehen im Thermostaten abzentrifugiert:

I. kaum gefärbt.
II. rötliche Färbung.
III. stärkere Färbung als in II.
IV. stark, blutrot.

Sämtliche Zentrifugenrückstände zeigen Agglutination.

machen. Der Versuch hat aber das Gegenteil erwiesen: durch genaue Neutralisation kann das durch Alkali inaktivierte Serum wieder genau so aktiv gemacht werden, wie es das aktive Serum selbst war.

Folgender Versuch mag das soeben mitgeteilte beweisen:

In drei Eprouvetten kamen je 0,5 ccm des schon öfters erwähnten aktiven Serumgemisches (5 Teile Lapinimmunserum, 3 Teile norm. Schweineblutserum); eine Portion erhielt keinen weiteren Zusatz, da sie zur Bestimmung der hämatolytischen Wirkung des unveränderten aktiven Serums diente, die andere wurde mit 2 ccm $\frac{n}{100}$ Na OH in physiologischer Na Cl-Lösung versetzt, die dritte aber, nachdem sie mit derselben Menge $\frac{n}{100}$ Na OH in physiologischer Na Cl-Lösung versetzt, also inaktiviert wurde, erhielt einen weiteren Zusatz von 1,8 ccm einer annähernd $\frac{n}{100}$ Salzsäure in physiologischer Na Cl-Lösung, da ein vorausgegangener Versuch gezeigt hatte, dafs die Salzsäure etwas stärker als $\frac{n}{100}$ war und dafs eben 1,8 ccm notwendig waren, um 2 ccm $\frac{n}{100}$ Na OH zu neutralisieren.

Jede der drei Eprouvetten erhielt die gleiche Menge 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion (2 ccm), schliefslich wurden alle drei Mischungen mit physiologischer Na Cl-Lösung auf das gleiche Volumen gebracht, durchgeschüttelt und $^3/_4$ Stunden lang im Thermostaten stehen gelassen.

Proberöhre	Blutkörperchen-Emulsion	aktives Immunser.	$\frac{n}{100}$ Na OH		
I.	2 ccm	+ 0,5 ccm	+ 2 ccm	+ 1,8 ccm	HCl
II.	2 »	+ 0,5 »	+ 2 »	+ 3,8 »	phys. Na Cl
III.	2 »	+ 0,5 »	+ ⊖	+ 1,8 »	» »

Nach dem Zentrifugieren wurde klar abgegossen.

I. und III. schienen fast gleich stark rot gefärbt, aber III. doch etwas stärker, was auch die kolorimetrische Bestimmung erwies.

II. war fast ungefärbt, nur leichter rötlicher Schimmer.

Die kolorimetrische Bestimmung, wie früher beschrieben ausgeführt, ergab in Skalenteilen des Hämometers ausgedrückt:

für I. 67 } im Mittel aus 10 Ablesungen.
» III. 77 }

Man sieht also, dafs durch Neutralisation der Alkalimenge, welche vollständige Inaktivierung hervorruft, die hämatolytische

Wirkung des Serums wieder hergestellt werden kann. Das Komplement wird nicht vernichtet.

Es ist also erwiesen, dafs die Aktivität des hämatolytischen Serums durch Zusatz von Alkali aufgehoben, durch Neutralisation des letzteren aber wieder hergestellt werden kann, und wir haben in diesem ganzen Verhalten in der Tat eine weitere Stütze für die Annahme, dafs der Immunkörper ein säureartiger Körper ist.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

VI. Uber die Änderung der Hydroxyl-Ionen-Konzentration beim Inaktivieren der Sera. Einflufs derselben auf die Hämatolyse.

Von

L. und P. v. Liebermann.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Budapest.)

Nach den in vorstehender Arbeit mitgeteilten Beobachtungen drängte sich die Frage auf, ob denn die Aktivität eines hämatolytischen Serums nicht etwa ausschliefslich dem sog. Immunkörper zuzuschreiben wäre, der, je nach dem gröfseren oder geringeren Gehalt des Serums an freiem Alkali, einmal die Rolle eines Agglutinins, ein andermal diejenige eines Hämolysins spielen könnte; kurz gesagt: ob es möglich ist, dafs eine Verminderung der OH-Ionenkonzentration das Hinzukommen eines Komplementes vortäuscht?

Es war zunächst zu untersuchen, ob die durch Erwärmen auf 56° bewirkte Inaktivierung mit einer Änderung der OH-Ionenkonzentration einhergeht in dem Sinne, dafs die Alkalizität gesteigert wird, ob also auch diese Art der Inaktivierung auf dieselbe Ursache zurückzuführen wäre, wie die durch direkten Alkalizusatz bewirkte?

Unsere in dieser Richtung geführten Untersuchungen haben zunächst ergeben, dafs die wirkliche Alkalizität der Sera, also ihre Hydroxyl-Ionenkonzentration, durch ½-stündiges Erhitzen auf 56° in der Tat wesentlich gesteigert wird, und zwar ebenso

die der Immunsera (von gegen Schweineblutkörperchen immunisierten Lapins) als die der von uns untersuchten Normalsera von Kaninchen, Schwein und Pferd. Wir führen einige dieser, nach der elektrometrischen Methode[1]) gewonnenen Resultate vor, schon darum, um über die Gröfsenordnung dieser Änderungen einen Begriff zu geben:

	Konzentration der OH-Ionen g-Äquivalente pro l
Immunserum I	$10 \cdot 10^{-7}$
Dasselbe bei 56° inaktiviert . .	$26 \cdot 10^{-7}$
Immunserum II mit phys. NaCl dreifach verdünnt	$3{,}4 \cdot 10^{-7}$
Dasselbe bei 56° inaktiviert . .	$9{,}1 \cdot 10^{-7}$

Folgender Versuch zeigt, dafs auch Normalserum auf 56° erhitzt ähnliche Anderungen erfährt:

	$C_{OH'}$
Normales Pferdeblutserum . .	$4{,}3 \cdot 10^{-7}$
Dasselbe auf 56° erhitzt . . .	$9{,}2 \cdot 10^{-7}$

Bestimmungen, welche auf unsere Bitte Herr Prof. Tangl mit anderen Seris die Güte hatte auszuführen, ergaben qualitativ dasselbe Resultat, wenn auch die Differenzen geringer waren, wie aus folgender kleinen Tabelle ersichtlich ist:

	$C_{OH'}$
Lapin-Immunserum	$3{,}8 \cdot 10^{-7}$
Dasselbe auf 56° erhitzt . . .	$5{,}1 \cdot 10^{-7}$
Lapin-Normalserum	$2{,}7 \cdot 10^{-7}$
Dasselbe auf 56° erhitzt . . .	$3{,}2 \cdot 10^{-7}$

[1]) Bekanntlich wird nach dieser Methode unter Anwendung von unpolarisierbaren Wasserstoff-Elektroden, die elektromotorische Kraft einer Kette bestimmt, welche einerseits aus $\frac{n}{100}$ Salzsäure (bereitet mit $\frac{n}{8}$ NaCl Lösung), anderseits aus dem zu untersuchenden Serum besteht, welche beide Flüssigkeiten durch eine mit $\frac{n}{8}$ NaCl-Lösung gefüllte Kapillarröhre miteinander in Verbindung gebracht werden (Ausführliches siehe z. B. bei H. J. Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre etc. Wiesbaden 1902—1904.)

Es mag hier erwähnt werden, dafs die Menge des titrierbaren Alkali durch Erhitzen des Serums keine Änderung erfährt:[1])

	Verbrauchte ccm $\frac{n}{10}$ Säure auf 100 ccm Serum berechnet
Aktives Immunserum	43
Dasselbe inaktiviert	44
Normalserum	32
Dasselbe inaktiviert	32

Nach alldem schien also unsere Vermutung, dafs beim Inaktivieren durch Erhitzen die Alkalizität der Sera gesteigert wird, bestätigt, und es schien der Schlufs gestattet, dafs die Einbufse an hämatolytischer Kraft, welche die erhitzten Sera erleiden, der vermehrten Alkalizität zuzuschreiben wäre, da wir ja gesehen hatten, dafs eine Inaktivierung auch durch Alkalizusatz zu erreichen ist, ja, da wir ja eben durch diese Beobachtung zu den soeben mitgeteilten Versuchen geführt wurden.

Trotzdem wäre aber letzterer Schlufs voreilig gewesen.

Als wir nämlich die Stichhaltigkeit eines solchen Schlusses einer weiteren experimentellen Prüfung unterzogen, hat es sich herausgestellt, dafs eine zur Inaktivierung führende Vermehrung der Hydroxylionen durch Zusatz von Alkali von ganz anderer Gröfsenordnung ist, als die, die durch Erhitzen der Sera auf 56° zu erzielen ist. In dem Versuche, dessen Resultat wir nachstehend mitteilen, war die Vermehrung der OH-Ionenkonzentration bei Zusatz von 5 ccm $\frac{n}{100}$ Kalilauge zu 1 ccm für Schweineblutkörperchen aktiven Lapinimmunserum, welche Menge eben ausreichend war, um es fast zu inaktivieren, etwa 19mal gröfser, als jene des durch Erhitzen inaktivierten Serums.

[1]) Diese Bestimmungen rühren auch von Herrn Prof. Tangl her. Angewendet wurde $\frac{n}{10}$ HCl und Lakmoidpapier als Indikator.

	OH′ Gramm-aequivalente im Liter
1 ccm aktives Immunserum + 2 ccm $\frac{n}{100}$ Kalilauge in 0,9 proz. NaCl-Lösung	170. 10−7
1 ccm aktives Immunserum + 2 ccm 0,9 proz. NaCl-Lösung	3,4. 10−7
1 ccm bei 56° inaktiviertes Immunserum + 2 ccm 0,9 proz. NaCl-Lösung	9. 10−7

Wenn es also auch erwiesen ist, dafs die wahre Alkalizität des Serums beim Erhitzen auf 56° beträchtlich ansteigt, und wenn es auch möglich ist, dafs dieses Ansteigen bei der Inaktivierung eine gewisse Rolle spielt, so ist diese bei unseren Versuchen nur gering anzuschlagen. Die Inaktivierung mufs andere, wichtigere Ursachen haben.

Diesen Schlufs rechtfertigen auch andere, gleichfalls zur Klarstellung der etwaigen Rolle der vermehrten Alkalizität von uns ausgeführte, im folgenden mitgeteilte Versuche.

Es lag nahe, den Versuch zu machen, das inaktivierte Immunserum durch Herabsetzung der Alkalizität, durch Zusatz von Säure wieder zu aktivieren, wobei natürlich saure Reaktion vermieden werden mufste und auch vermieden wurde. Wir haben Kohlensäure und Salzsäure verwendet.

Es sei zunächst ein Versuch mit Kohlensäure mitgeteilt.

Schweineblutkörperchen lösendes Kaninchenimmunserum wurde in 3 Portionen geteilt; eine blieb unverändert, die andere wurde bei 56° inaktiviert, die dritte ebenfalls inaktiviert, aber nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde in dieselbe etwa 20 Minuten lang gewaschenes Kohlendioxyd eingeleitet.

8 Eprouvetten wurden nun auf folgende Weise beschickt:

I.	10 Tropfen Schweineblutkörperchen-Emulsion	+ 4 Tropfen inaktives Immunserum.
II.		+ 4 » » »
III.		+ 4 » » » mit CO_2 behandelt.
IV.		+ 4 » » » » » »
V.		+ 4 » aktives Immunserum.
VI.		+ 4 » » »
VII.		+ 4 » physiol. NaCl-Lösung.
VIII.		+ 4 » » » »

Also überall je zwei sich kontrollierende Versuche. V—VIII waren Vergleichs- resp. Kontrollröhrchen. Sämtliche blieben nach dem Durchschütteln gleich lang (etwa 1 Stunde) im Thermostaten bei 37 °, wurden dann zentrifugiert und abgegossene Flüssigkeit sowie Zentrifugenrückstand untersucht.

Resultate.

I., II. ganz gleich, starke Agglutination, schwache Hämatolyse.
III., IV. ganz gleich, Agglutination, bedeutend stärkere Hämatolyse.
V., VI. ganz gleich, schwache Agglutination, sehr starke Hämatolyse.
VII., VIII. ganz gleich, schwache rötliche Färbung der Lösung.

Die quantitativen Hämoglobinbestimmungen, ausgeführt wie bei den vorstehenden Ricinversuchen, ergaben:

für Lösung I und II = 52		
» » III » IV = 62		der Fleischlschen
» » V » VI = über 120		Hämometer-Skala.
» » VII » VIII = 17		

Ein anderer Versuch mit längerem Einleiten von CO_2 ergab ungefähr das nämliche.

Es gelingt also, das inaktivierte Immunserum durch Einleiten von CO_2 teilweise zu reaktivieren. Aber eine dem aktiven Immunserum auch nur annähernd gleiche hämatolytische Wirkung ist mit Kohlensäure nicht zu erzielen.

Der Gedanke, dafs die Veränderung des Immunserums beim Erwärmen auf 56° etwa durch Entweichen von Kohlendioxyd zu erklären wäre, ist also von der Hand zu weisen. Übrigens lehrten auch direkte Versuche, dafs auch beim Erhitzen bis zur Koagulation nur sehr wenig CO_2 entweicht.

Auch Versuche mit einer starken Säure, der Salzsäure, haben ein qualitativ ähnliches Resultat ergeben, denn es gelingt allerdings durch Zusatz von Salzsäure (oder auch von anderen starken Säuren, wie z. B. Schwefelsäure) zu einem durch Erwärmen inaktivierten Immunserum demselben hämatolytische Eigenschaft zu geben, verwendet man aber so viel Säure als nötig ist, um denselben Grad von Hämatolyse zu erreichen, welchen das aktive (nicht erhitzte) Immunserum bewirkt, so findet man, dafs der Alkaligehalt des mit

Säure versetzten Serums schon so beträchtlich abgenommen hat, dafs es nicht mehr entschieden alkalisch, sondern schon amphoter reagiert und dafs an der schon etwas bräunlichen Färbung der hämatolysierten Flüssigkeit eine Säurewirkung (Methämoglobinbildung) deutlich zu erkennen ist.

Die zu den Versuchen dienenden Sera wurden aus einem Gemisch von gegen Schweineblutkörperchen immunisiertem Lapinimmunserum und normalem Schweineblutserum im Verhältnisse von 5 : 3 hergestellt. Es geschah dies darum, weil das Serum unserer hochimmunisierten Kaninchen zwar reich an Immunkörper, aber schon arm an Komplement geworden war und für sich allein nur mehr sehr schwach hämatolytisch wirkte. Ein Teil wurde bei 56° inaktiviert, ein anderer Teil als aktives Serum verwendet. Nach ³/₄ stündigem Stehen im Thermostaten (bei 37°), während welcher Zeit einmal durchgeschüttelt wurde, wurden die Proberöhren herausgenommen, gleichzeitig zentrifugiert, die Flüssigkeiten klar abgegossen und diese miteinander kolorimetrisch oder auch durch einfache Inspektion verglichen.

Der Schlufs einer solchen längeren Versuchsreihe mit steigenden Mengen von $\frac{n}{100}$ HCl und dementsprechend steigender Hämatolyse war folgender:

Proberöhre I. 2 ccm Schweineblutkörperchen-Emulsion + 0,5 ccm inaktives Immunserum + 3,5 ccm $\frac{n}{100}$ HCl.

Proberöhre II. 2 ccm Schweineblutkörperchen-Emulsion + 0,5 ccm aktives Immunserum + 3,5 ccm phys. NaCl.

Serum I reagiert amphoter, Serum II stark alkalisch. Nach ³/₄ stündigem Stehen im Thermostaten zentrifugiert. Die abgegossenen Flüssigkeiten gleich stark hämatolysiert und beinahe gleicher Farbennuance, doch hatte Flüssigkeit I schon einen leisen Stich ins Bräunliche. Die Zentrifugenrückstände waren gleich, sowohl was ihre Menge als ihr Aussehen anbelangt (I etwas bräunlicher gefärbt), und bestanden aus roten, agglutinierten Blutkörperchenklumpen.

Der Hämoglobingehalt der beiden Flüssigkeiten, ausgedrückt in Graden des Fleischlschen Hämometers, war im Mittel aus 10 miteinander gut übereinstimmenden Ablesungen folgender:

I = 49, II = 44.

Die verwendeten 3,5 ccm $\frac{n}{100}$ HCl hatten also 0,5 ccm inaktiviertes Immunserum allerdings vollständig reaktiviert, aber unter den schon erwähnten Begleiterscheinungen, die nicht gestatten, eine Identität mit der hämatolytischen Wirkung des aktiven Serums anzunehmen,

Das Resultat der soeben mitgeteilten Versuche ist also folgendes:

Obwohl die OH-Ionenkonzentration der Immunsera beim Inaktivieren durch Erwärmen eine wesentliche Steigerung erfährt, so ist es doch nicht diese, welche die Inaktivierung bewirkt. Sie kann höchstens eine untergeordnete Rolle spielen. Eine Verminderung der OH-Ionenkonzentration (oder eine Steigerung der H-Ionenkonzentration) bei einem noch zulässigen Grad bewirkt allerdings verstärkte Hämatolyse; diese ist aber, falls die Sera nicht schon beinahe sauer reagieren, nie so bedeutend, wie die, die ein aktives hämatolytisches Serum bewirkt.

Die eingangs dieser Mitteilung erwähnte Annahme wäre also falsch, und es mufs daher in der Tat nach einem Körper (Komplement) gesucht werden, welcher im Verein mit dem Immunkörper die Hämatolyse hervorruft.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

VII. Über Nachweis und Isolierung des hämatolytischen Immunkörpers.

Von

L. v. Liebermann und **B. v. Fenyvessy.**

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Budapest.)

In einer früheren Mitteilung (s. oben) wurde darauf hingewiesen, dafs durch Behandeln von — durch Zusatz eines inaktivierten Immunserums — agglutinierten Schweineblutkörperchen mit $^{n}/_{100}$ HCl eine Lösung erhalten wird, welche nach genauer Neutralisation Schweineblutkörperchen zu agglutinieren vermag.[1]) Da Kontrollversuche, in welchen Schweineblutkörperchen anstatt eines Immunserums mit inaktiviertem Schweineblutserum behandelt wurden, sonst aber ganz ähnlich vorgegangen wurde, keine agglutinierenden Extrakte lieferten, konnte nicht daran gezweifelt werden, dafs mit Hilfe von Salzsäure das an die Blutkörperchen gebundene Agglutinin frei gemacht werden kann. Eine Auflösung der Blutkörperchen bei Zusatz von Normalserum stellte sich aber in diesen ersten Versuchen entweder gar nicht oder doch ganz undeutlich ein. Der Umstand, dafs das Salzsäureextrakt mit Immunserum behandelter Blutkörperchen wohl agglutinierende, jedoch — selbst in Gegenwart eines komplementhaltigen Serums — keine hämatolytischen Eigen-

1) In ähnlicher Weise haben mit $\frac{n}{100}$ NaOH und H_2SO_4 Hahn und Trommsdorff das Typhus- und Cholera-Agglutinin abgespalten. Münch. med. Wochenschr. 1900, Nr. 13.

schaften aufweist, wäre selbst dann auffällig gewesen, wenn wir an der Identität des Agglutinins und des hämatolytischen Immunkörpers hätten zweifeln wollen. Es lag näher, den Grund für das Ausbleiben der Hämatolyse in den ungünstigen Versuchsbedingungen zu suchen. Es war uns nämlich von früheren Versuchen her bekannt, dafs eine ganz geringfügige Zunahme der Alkalinität der Mischung die Wirksamkeit des Immunkörpers aufzuheben vermag, d. h. dafs zwischen der Menge des Immunkörpers und der Höhe der Alkalinität des Serums ein ganz bestimmtes Verhältnis bestehen mufs, um die Hämatolyse zum Vorschein treten zu lassen. Es war daher zu erwarten, dafs es in einem Versuche, wo ein auf irgend welche Weise isolierter Immunkörper von unbekannter Menge mit Blutserum vermischt wird, rein vom Zufall abhängen wird, ob das erwähnte Gleichgewicht erreicht wird. Die nachstehenden Versuche zeigen, dafs es tatsächlich stets gelingt, den hämatolytischen Immunkörper in dem Salzsäureextrakt der agglutinierten Blutkörperchen nachzuweisen, sobald die Alkalinität des komplementhaltigen Serums eine entsprechende ist, resp. durch Zusatz von Säure entsprechend herabgesetzt wird.

Im folgenden teilen wir die bisherigen Resultate unserer Untersuchungen über den Nachweis und die Isolierung der Immunkörper mit. Wir beschreiben den Gang der Versuche etwas ausführlicher, da das Gelingen der Experimente vom genauen Einhalten der von uns ermittelten Bedingungen abhängt.

Unter »Blutkörperchen-Emulsion« soll wie immer eine 5 proz. Suspension von gewaschenen Schweineblutkörperchen in 0,9 proz. NaCl-Lösung verstanden werden. Stark wirksame hämatolytische Immunsera — und solche sollen verwendet werden — wurden erhalten von kräftigen, 2000—2500 g schweren Kaninchen (Lapins), die mit je 1 ccm, später mit je 2 ccm der erwähnten Emulsion mindestens 5—6 Tage lang subkutan geimpft wurden.

Zur Kontrolle der mit Immunseris angestellten Versuche dienten solche, in denen anstatt des Kaninchenserums Schweineserum verwendet, sonst aber ganz ähnlich vorgegangen wurde.

Die Sera wurden durch halbstündiges Erwärmen bei 56° C inaktiviert und dann mit der doppelten Menge einer Blutkörperchenemulsion gründlich vermengt (es wurden gewöhnlich 3 ccm Serum und 6 ccm Emulsion angewendet). Die Mischung blieb dann $^3/_4$ Stunden lang im Thermostaten. Dann wurden die Blutkörperchen abzentrifugiert und dreimal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen. Nach Abgiefsen der letzten Waschflüssigkeit schritten wir zur Zerlegung der supponierten Stroma-Immunkörperverbindung. Zu diesem Zwecke fügten wir den Blutkörperchen 3 ccm einer $^1/_{100}$ normalen HCl-Lösung zu (letztere enthielt, gleich allen unseren sonstigen Reagentien 0,9 % NaCl). Die Mischung wurde etwa 2 Minuten lang geschüttelt, dann abzentrifugiert. Die abgegossene mehr oder minder bräunlich oder rötlich gefärbte Flüssigkeit wurde mit $^1/_{100}$ normaler KOH, bei Anwendung von empfindlichem Lackmuspapier genau neutralisiert, der dabei entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert. Diese nunmehr gewöhnlich nur schwach gefärbte neutrale Lösung diente zum Nachweis des Immunkörpers. Sie wurde mit 2 ccm frischem Schweineblutserum und mit der gleichen Menge Blutkörperchenemulsion gründlich vermischt und auf $^3/_4$ Stunden in den Thermostaten gestellt, dann abzentrifugiert, um in der über den Blutkörperchen stehenden Flüssigkeit das etwaige Austreten von Blutfarbstoff und nach Abgiefsen derselben ein Zusammenkleben der Blutkörperchen beobachten zu können. In den auf diese Weise ausgeführten Versuchen konnte stets die Agglutination der Blutkörperchen festgestellt werden; auch die Hämatolyse trat manchmal ein, doch blieb sie sehr oft aus. Die Kontrollversuche fielen in beiden Richtungen immer negativ aus. Nun suchten wir — unserer anfangs geschilderten Annahme entsprechend, die zu hohe Alkalinität der Serums durch Zusatz von 5—10 Tropfen $^1/_{100}$ normaler HCl auf einen geeigneten Grad herabzusetzen. Es stellte sich aber bald heraus, dafs es durch einzelne Versuche nicht gelingt, den nötigen Säurezusatz ausfindig zu machen.

Wir stellten daher Serienversuche an und suchten das Optimum der Reaktion durch Zusatz von abgestuften Säure-

mengen festzustellen, wobei darauf geachtet wurde, dafs die Mischungen noch alkalisch reagieren.

Wir lassen zwei solche Beispiele folgen. In beiden Fällen wurde der oben beschriebene Vorgang bis zur Neutralisation der Extrakte verfolgt. Wir benutzen folgende Abkürzungen:

K_{56} = inaktiviertes Kaninchenserum.
S_{56} = » Schweineserum.
S = frisches Schweineserum.
Bl = 5 proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion.
Extr. K_{56} = neutr. Extrakt von mit K_{56} behandelten Blutkörperchen.
Extr. S_{56} = » » » » S_{56} » »

Versuch I.

1.	Extr. K_{56}	+ 10	Tropfen 1/100 norm. HCl	+ 2 ccm S	+ 2 ccm Bl.
2.	» »	+ 15	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
3.	» »	+ 20	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
4.	» »	+ 25	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
5.	» »	+ 30	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
6.	Extr. S_{56}	+ 10	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
7.	» »	+ 15	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
8.	» »	+ 20	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
9.	» »	+ 25	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
10.	» »	+ 30	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »

Die Proben wurden mit 0,9 proz. NaCl-Lösung komplettiert, 3/4 Stunden lang im Thermostaten gehalten, dann zentrifugierten. Resultat: In 6., 7., 8., 9. und 10. keine Agglutination, keine Hämatolyse. In 1., 2., 3., 4. und 5. Agglutination, deutliche, ziemlich gleich starke Hämatolyse.

Dieser Versuch beweist die Anwesenheit des hämatolytischen Immunkörpers im Salzsäureextrakt der durch Immunserum agglutinierten Blutkörperchen. Ein Einflufs der steigenden HCl-Zusätze läfst sich aber hier nicht feststellen. Vielleicht wäre die Hämatolyse auch ohne nachträglichen Säurezusatz eingetreten.

Versuch II.

1.	Extr. K_{56}	+ 10	Tropfen 1/100 norm. HCl	+ 2 ccm S	+ 2 ccm Bl.
2.	» »	+ 15	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
3.	» »	+ 20	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
4.	» »	+ 30	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
5.	» »	+ 40	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
6.	Extr. S_{56}	+ 10	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
7.	» »	+ 15	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
8.	» »	+ 20	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
9.	» »	+ 30	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »
10.	» »	+ 40	» » » »	+ 2 » »	+ 2 » »

(Sonstiges Vorgehen wie in Versuch I.)

Resultat: In 6., 7., 8., 9. und 10. keine Agglutination, keine Hämatolyse. In 1., 2., 3., 4. und 5. starke Agglutination, in 2. und 3., starke Hämatolyse, sonst nirgends.

Dieser Versuch zeigt deutlich den Einflufs der Reaktion auf die hämatolytische Wirkung des Immunkörpers. Das Optimum der Alkalinität scheint sich zwischen ganz engen Grenzen zu bewegen. Es wurde bei Zusatz von 15 und 20 Tropfen $^1/_{100}$ normaler HCl erhalten, 10 Tropfen waren zu wenig, 30 und 40 zu viel. Aus den beiden letzten Daten folgt aber, was übrigens durch die Kontrollversuche zur Genüge erwiesen ist, dafs der HCl bei der Auflösung der Blutkörperchen keine direkte, sondern nur eine indirekte Rolle zukommt, indem sie die Reaktion der Mischung auf die nötige Höhe einstellt.

Nachdem wir uns darüber klar geworden waren, dafs der Immunkörper im Salzsäureextrakt[1]) enthalten ist, stellten wir uns die Aufgabe, den Immunkörper weiter zu isolieren, resp. ihn womöglich in reinem Zustande darzustellen.

Zum Ausgang dienten uns auch diesmal die in der obigen Weise mit dem Immunkörper beladenen Schweineblutkörperchen. Auch wurden dieselben Prozeduren gleichzeitig mit Schweineblutserum zur Kontrolle durchgeführt.

Die vom Serum abzentrifugierten und dreimal gewaschenen Blutkörperchen wurden mit 10 ccm $^1/_{100}$ normaler HCl versetzt, nach 2 bis 3 Minuten in den Scheidetrichter gebracht und mit erneuerten Äthermengen dreimal ausgeschüttelt. Um die Trennung der Schichten zu fördern, wurde in die saure Flüssigkeit NaCl bis zur Sättigung eingetragen. Die durch trockene Filter filtrierten Ätherauszüge wurden vereinigt und verdunstet. Der Rückstand war stark gefärbt (Ätherextrakt). Die saure Flüssigkeit brachten wir in eine Abdampfschale, versetzten sie mit $^1/_{100}$ normaler Na_2CO_3-Lösung bis zur schwach alkalischen Reaktion und verdampften sie auf dem Wasserbade. Den trockenen Rückstand brachten wir möglichst vollständig in eine Kochflasche und kochten ihn auf dem Wasserbade am Rückflufs-

[1]) Wir haben in einigen Versuchen auch eine $^1/_{100}$ norm. H_2SO_4 zur Extraktion angewendet.

kühler mit dreimal erneuertem absolutem Alkohol, je eine Stunde lang. Die filtrierten braunen Extrakte wurden vereinigt, der Alkohol auf dem Wasserbade verjagt. (Roher alkoholischer Extrakt.) Diese beiden (ätherischen und alkoholischen) Extraktrückstände sowie die in heifsem Alkohol unlöslichen Substanzen lösten resp. suspendierten wir in 2—3 ccm 0,9 proz. NaCl-Lösung, fügten je 2 ccm **S** und **Bl.** hinzu und verfuhren sonst, wie früher beschrieben wurde. — Es ist hier am Platze zu erwähnen, dafs man in Fällen, wo es sich schon von vornherein um bräunlich gefärbte Flüssigkeit handelt, die eine genaue Beobachtung einer etwaigen geringfügigen Hämatolyse vereiteln, zweckmäfsig verfährt, wenn man nach dem ersten ³/₄ stündigen Versuch die gefärbte Flüssigkeit von den abzentrifugierten Blutkörperchen abgiefst, letztere mit frischem, hellem **S** versetzt und die Probe wieder in den Thermostaten stellt.

Durch viele Versuche liefs es sich feststellen, dafs von den genannten drei Extraktionsprodukten weder im Ätherextrakt, noch in den in heifsem Alkohol unlöslichen Anteilen, wohl aber im (rohen) alkoholischen Extrakte der hämatolytische Immunkörper enthalten ist. In diesem trockenen Rückstand lassen sich (neben wenig unorganischer Substanz) zwei verschiedene Substanzen unterscheiden. Die eine ist braun, schmierig, in Wasser (0,9 proz. NaCl) fast gar nicht, in kaltem Alkohol leicht löslich; sie besitzt keine hämatolytischen Eigenschaften. Die zweite Substanz ist ebenfalls bräunlich, sandartig, in Wasser leicht, in kaltem Alkohol schwer löslich. Diese wirkt, in 0,9 proz. NaCl gelöst und filtriert nach Zusatz von **S** und **Bl** deutlich hämatolytisch.

So weit sind unsere Isolierungsversuche bisher gediehen. Wir sind gegenwärtig mit der Darstellung und weiteren Reinigung dieser wasserlöslichen Substanz beschäftigt.

Über Hämagglutination und Hämatolyse.

VIII. Über hämatolytische Komplemente und über den Mechanismus der Wirkung hämatolytischer Sera.

Von

L. v. Liebermann.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Budapest.)

Meine Versuche über die Wirkungsweise der hämatolytischen Kaninchensera auf Schweineblutkörperchen hatten ergeben, dafs das in ihnen befindliche Agglutinin nicht genügt, um ihre bedeutende hämatolytische Wirkung zu erklären. Entsprechend den auch bisher gültigen Anschauungen ist also zum Zustandekommen der Hämatolyse noch mindestens ein zweiter Körper nötig.

Bei der Suche nach diesem Körper dachte ich natürlich zunächst an das Lecithin, da Kyes, sowie später auch Sachs[1]) gefunden hatten, dafs es bei Kobragift die Rolle eines Komplementes spielt. Ich mufste mich aber alsbald überzeugen, dafs bei meinen hämatolytischen Kaninchenseris das Lecithin, wenigstens das aus Eidotter bereitete, nicht in dieser Weise wirkt, denn eine Lecithin-Emulsion in physiologischer NaCl-Lösung, welche schon für sich stark hämatolytisch wirkte, büfst diese Wirkung vollständig ein, wenn man es in derselben Menge inaktiviertem Kaninchenserum zusetzt. Auch sein Spaltungsprodukt, das Neurin, verliert viel von seiner hämatolytischen Kraft, wenn

---

[1]) Preston Kyes und Kyes und Sachs, gesammelte Arbeiten über Immunitätsforschung von P. Ehrlich.

es mit inaktiviertem Immunserum gemengt wird. Ich übergehe die nähere Beschreibung dieser negativen Versuche und bemerke nur, dafs die Befunde von Kyes und Sachs der Annahme einer Vielheit der Komplemente günstig sind, unter denen auch verschiedene Lecithine vorkommen und, je nach ihrer Natur verschiedene Wirkungen entfalten können.

Nachdem ich durch eigene Versuche festgestellt hatte, dafs das Komplement kein flüchtiger Körper ist — (es wurde aktives Serum destilliert und das Destillat in bei 56° inaktiviertem Immunserum aufgefangen, wodurch dieses nicht reaktiviert wurde) — versuchte ich, ob die Sera, welche ja meistens trübe sind oder opalisieren, bei Filtration eine Veränderung erleiden. In der Tat gelang es einigemal, aktives Immunserum durch öfteres Filtrieren durch schwedisches Filtrierpapier inaktiv zu machen und durch Herunterspülen des auf dem Filter gar nicht sichtbaren Rückstandes mit dem inaktivierten Serum (bei durchstofsenem Filter) dieses wieder zu reaktivieren.

Es gelang also mitunter, das Komplement abzufiltrieren. Meistens gelingt dies aber nicht. Immunsera, welche bei 56° inaktiviert werden, trüben sich ziemlich stark, und man sieht in der Flüssigkeit zahlreiche, stark lichtbrechende Flitter schwimmen. Filtriert man, so bleiben schon merkliche Rückstände, in welchen ich neben höheren Fettsäuren Kalk gefunden habe.

Die Rückstände wurden (mitsamt dem Filter) mit verdünnter Salzsäure erwärmt, die Flüssigkeit abgegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Dieser hinterliefs nach dem Verdunsten einen kristallisierten Rückstand, welcher den Margarinkristallen sehr ähnlich war. Er löste sich leicht in Alkohol und in verdünnter Sodalösung. Letztere trübte sich beim Ansäuern.

Die vom Äther getrennte Salzsäurelösung gibt mit Ammoniak und oxalsaurem Ammoniak starke Trübung.

Diese Beobachtung führe ich nur aus dem Grunde an, weil sie es war, die mich zuerst dazu gebracht hat, meine Aufmerksamkeit den in den Seris vorkommenden Fettsäuren und Seifen zuzuwenden.

Es ist längst bekannt, dafs im Blute Seifen als normale Bestandteile vorkommen, auch wufste man, dafs die Seifen rote Blutkörperchen zerstören, also hämatolytisch wirken, und doch schenkte man diesen Thatsachen keine besondere Beachtung.

Ich mufste mich fragen: wie kommt es, dafs diese Seifen des Blutserums die Blutkörperchen nicht zerstören? Der Gedanke, dafs das Serum zu wenig Seife enthielte, war zurückzuweisen, denn ich sah, dafs schon 0,25 ccm einer 1 ‰ Lösung von Medizinalseife 2 ccm 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion in ganz kurzer Zeit (etwa einer Viertelstunde) vollständig zu hämolysieren vermag, bei einem Gesamtvolumen der Mischung von etwa 5 ccm, so also, dafs diese etwa 0,00025 ccm Seife enthält, was nur 5 Tausendstel Prozenten entspricht!

Offenbar sind also im Serum Stoffe vorhanden, welche die Blutkörperchen gegen die Wirkung der Seifen schützen.

Ich erkannte sehr bald, dafs schon dem Serumalbumin allein eine solche schützende Kraft zukommt, ja dafs dies eine Eigenschaft der Eiweifskörper überhaupt sein dürfte, da auch Hühnereiweifs eine ähnliche Wirkung ausübt.

Ich führe als Beispiel folgende, gröfseren Reihen entnommenen zwei Versuche an:

1. Serumalbumin in phys. NaCl bis zur Sättigung gelöst und filtriert (A). Medizinalseife in phys. NaCl-Lösung (1 : 1000) (B). 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion in phys. NaCl mit gewaschenen Blutkörperchen bereitet (C).

I.	0,25 ccm B +	2 ccm A +	2 ccm C +	0,45 ccm phys. NaCl.
II.	0,25 » B +	0 +	2 » C +	2,45 » » »

Nach 20 Minuten langem Stehen im Thermostaten zentrifugiert: II. sehr stark hämatolysiert; I. keine Spur von Hämatolyse.

2. Mit Eieralbuminlösung, bereitet, wie die Lösung von Serumalbumin (D).

I.	0,5 ccm B +	1 ccm D +	2 ccm C +	0
II.	0,5 » B +	0 +	2 » C +	1 ccm phys. NaCl.

II.: starke Hämatolyse. I.: sehr schwache Hämatolyse.

Ähnlich den erwähnten Eiweifskörpern wirken auch Kalksalze, wie folgender Versuch zeigt:

1.	0,1 ccm Seifenlös. (B)	+ 0,5 ccm 1% $CaCl_2$ in phys. NaCl	+ 2 ccm Blutk.-Emuls.	
2.	0,1 » » »	+ 0	+ 2 » »	

Nach $^1/_2$ stündigem Stehen im Thermostaten:

1. Keine Spur von Hämatolyse.
2. Vollständig hämatolysiert.

Es mag erwähnt werden, dafs auch Magnesiumsalze eine ähnliche, wenn auch etwas schwächere Wirkung entfalten.

Durch $CaCl_2$ inaktivierte Seifenlösung kann mit kalkentziehenden Mitteln, z. B. mit oxalsaurem Ammonium wieder reaktiviert werden.

Folgender Versuch mit 1 proz. Ammoniumaxalatlösung O. A., mit physiologischer NaCl-Lösung bereitet, beweist dies:

1.	0,1 ccm Seifenlösung	+ 0	+ 0	+ 1,5 ccm phys. NaCl
2.	0,1 » »	+ 0,5 ccm $CaCl_2$	+ 0	+ 1,0 » » »
3.	0,1 » »	+ 0,5 » »	+ 0,5 O. A.	+ 0,5 » » »
4.	0,1 » »	+ 0,5 » »	+ 1,0 »	+ 0 » »
5.	0,1 » »	+ 0	+ 0,5 »	+ 1,5 » » »
6.	0,1 » »	+ 0	+ 1,0 »	+ 0,5 » » »
7.	0 » »	+ 0	+ 0,5 »	+ 1,6 » » »
8.	0 » »	+ 0	+ 1,0 »	+ 0,6 » » »

Nach halbstündigem Stehen im Thermostaten:

1. = schwache Hämatolyse.
2. = keine Spur.
3. = vollständige Hämatolyse.
4. = » »
5. = Spuren von Hämatolyse.
6. = » » »
7. = keine Spur von Hämatolyse.
8. = » » » »

Es ist hier aufser dem reaktivierenden Einflufs auch noch zu erkennen, dafs das oxalsaure Ammonium die Wirkung der Natronseife befördert, wahrscheinlich infolge einer Umsetzung.

Andere Versuche, bei denen $CaCO_3$ und $Ca_3(PO_4)_2$ den Seifenlösungen in Pulverform zugesetzt wurden, haben ergeben, dafs ausgiebige Inaktivierung erst beim Erhitzen eintritt, und dafs auch hier die entsprechenden Magnesiumverbindungen weniger wirksam sind. Dafs es sich in allen diesen Fällen um eine Bildung von schwerlöslichen und minder wirksamen Kalkseifen handelt, liegt auf der Hand.

Genau so wie Seifenlösungen werden nun auch die aktiven hämatolytischen Kaninchenimmunsera und Schweineblutserum von Kalziumchlorid (1 proz. mit physiologischer Kochsalzlösung bereitete Lösung) inaktiviert. Zu folgendem Versuch diente ein Gemenge aus gleichen Teilen Kaninchenimmunserum und Schweineblutserum.

1.	1 ccm Serum	+ 1 ccm $CaCl_2$	+ 2 ccm Schweineblut-Em.	+ 1 ccm phys. NaCl.
2.	1 » »	+ 2 » »	+ 2 » »	+ 0
3.	1 » »	+ 0	+ 2 » »	+ 2 ccm phys. NaCl.

Nach halbstündigem Stehen im Thermostaten:

1. Spuren von Hämatolyse.
2. Keine Spur von Hämatolyse.
3. Vollständig hämatolysiert.

Die Ursache dieser inaktivierenden Wirkung ist offenbar auch hier die, dafs das Kalksalz das im Serum vorhandene fettsaure Alkali in die unwirksame und schwerlösliche Kalkverbindung überführt.

Auch hier gelingt es, das hämatolytische Vermögen durch Zusatz von oxalsaurem Ammonium wieder herzustellen, doch ist ein quantitativer Vergleich schwierig, weil nach Zusatz von oxalsaurem Ammonium zum Serum eine dichte, nicht filtrierbare und auch beim Zentrifugieren sich nicht absetzende Trübung entsteht, welche sehr störend wirkt.[1])

Aber auch in anderer Beziehung verhält sich eine Seifenlösung dem Blutserum ähnlich. Wie dieses, wird auch sie durch Zusatz von Alkalilaugen inaktiviert, wie folgender Versuch (mit physiologischer NaCl-Lösung bereitete Reagentien) zeigt:

1.	0,1 ccm Seifenlös.	+ 0,1 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH	+ 0,9 ccm phys. NaCl.
2.	0,1 » »	+ 0,2 » »	+ 0,8 » » »
3.	0,1 » »	+ 0,3 » »	+ 0,7 » » »
4.	0,1 » »	+ 0,5 » »	+ 0,5 » » »
5.	0,1 » »	+ 1,0 » »	+ 0 » »
6.	0,1 » »	+ 0 »	+ 1,0 » » »

[1]) Bei der Redaktion dieser Mitteilung und Durchsicht der neuesten Literatur finde ich im Biochem. Zentralblatt 1906, S. 128, ein Referat über eine Arbeit von A. Ruffer und Crendiropoulo, demzufolge auch diese Autoren gefunden haben, dafs Erdalkalisalze, z. B. $CaCl_2$, ja sogar NaCl (!), auf hämatolytische Sera Antiwirkungen ausüben.

Nach halbstündigem Aufenthalt im Thermostaten:

1. und 6. = starke Hämatolyse, fast vollständig;
2. = schwache Andeutung von Hämatolyse;
3. = wieder stärkere Hämatolyse;
4. = wieder viel schwächer;
5. = Spuren, fast wie 2.

Auch gegen Zusatz von Säure verhalten sich Seifenlösung und Blutserum ähnlich. Bei beiden läfst sich durch Versuche eine bestimmte Säuremenge finden, durch welche sie inaktiviert oder doch in ihrer hämatolytischen Wirkung beträchtlich geschädigt werden.

Folgender Versuch mit meiner stets verwendeten Seifenlösung und mit physiologischer NaCl-Lösung bereiteter $\frac{n}{100}$ Schwefelsäure zeigt zunächst bei Zimmertemperatur die schädigende Wirkung der Säure:

1.	0,5 ccm Seifenlösung	Zu allen Proben 2 ccm 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion
2.	0,5 » » + 0,05 ccm $\frac{n}{100}$ H_2SO_4	
3.	0,5 » » + 0,10 » »	
4.	0,5 » » + 0,15 » »	
5.	0,5 » » + 0,20 » »	
6.	0,5 » » + 0,25 » »	
7.	0,5 » » + 0,30 » »	
8.	0,5 » » + 0,50 » »	
9.	0,5 » » + 1,00 » »	
10.	0,5 » » + 2,00 » »	
11.	0,5 » » + 3,00 » »	

Zuerst lösen sich 11 und 10, aber unter Braunfärbung. (Wirkung der Schwefelsäure.) Hierauf Nr. 9, dann Nr. 1.

Viel später tritt Hämatolyse auf bei 2, dann bei 8, 7 und 3.

Am längsten bleiben anscheinend unverändert 5 und 6.

Die Wirkung ist verständlich, denn beim Versetzen mit Schwefelsäure werden Fettsäuren frei und diese, wiewohl auch sie Hämatolyse hervorrufen, wirken doch weniger intensiv hämatolytisch als die Seifen. In entsprechenden geringen Mengen zeigen sie nur Agglutination.

Die Wirkung von Säure auf ein Gemenge von bei 56° inaktiviertem Immunserum und Schweineserum ergibt sich aus folgendem:

1. 0,5 ccm inakt. Serum + 0,5 ccm Schweineser. + 1,1 ccm phys. Na Cl-Lösung
2. 0,5 » » » + 0,5 » » + 1,1 » $\frac{n}{100}$ Salzsäure in phys Na Cl-Lösung, nach Zusatz von je 2 ccm 5 proz. Blutkörperchen-Emulsion in den Thermostaten gebracht.

1. = starke Hämatolyse;
2. = keine Hämatolyse; Flüssigkeit trübe. Nach dem Zentrifugieren stark agglutinierte Blutkörperchen.

Alle diese Versuche bestätigen also die Richtigkeit der Annahme, dafs in meinem hämatolytischen Serum die Seifen die Rolle von Komplementen spielen.

Überdies wurden aber Seifen aus Schweineserum direkt extrahiert und mein Assistent, Herr Privatdozent v. Fenyvessy, hat festgestellt, dafs sie wie andere Seifen Blutkörperchen hämatolysieren. Schweineserum wurde auf reinem Quarzsand eingetrocknet und mit siedendem Alkohol extrahiert. Der alkoholische Auszug wurde zur Trockne gebracht und mit kaltem Alkohol abermals ausgesogen. Dieser Auszug hinterläfst einen Rückstand, der sich in destilliertem Wasser oder auch in physiologischer Kochsalzlösung so wie Seife zu einer beim Schütteln schäumenden, trüben Flüssigkeit löst. Bei Zusatz einer stärkeren Säure entsteht starke Trübung, welche beim Schütteln mit Äther völlig verschwindet (Übergang der freigemachten Fettsäuren in den Äther).

Die trübe, beim Schütteln schaumbildende Flüssigkeit hämatolysiert Schweineblutkörperchen.

Wenn es also wirklich die Seifen sind, welche hier die Rolle von Komplementen spielen — oder auch andere ähnliche hämatolytisch wirkende Verbindungen, man kann z. B. an gallensaure Salze denken — diese aber, weil sie an Eiweifs gebunden sind, in den Normalseris nicht zur Wirkung gelangen können: so mufs in den Immunseris ein Körper vorhanden sein, der die Seifen frei und wirkungsfähig macht, und dieser Körper wäre eben der Immunkörper.

In den vorstehenden Mitteilungen wurden so manche Gründe angegeben, die dafür sprechen, dafs dieser Immunkörper eine Säure oder ein Gemenge von säureartigen Körpern sein dürfte.

Da wir diesen hämatolytischen Immunkörper von den mit ihm beladenen Blutkörperchen wohl abgetrennt und in Lösung gebracht haben, aber eben erst damit beschäftigt sind, ihn rein darzustellen, kann über ihn noch nichts Bestimmtes ausgesagt werden.

Aber ich habe doch Versuche gemacht, welche beweisen, dafs eine Vorstellung von dessen Wirkungsweise, wie sie soeben mitgeteilt wurde, überhaupt möglich ist, indem ich die Erscheinungen, wie sie sich bei hämatolytischen Seris zeigen, mit Gemischen willkürlich gewählter Stoffe — Seife, Ölsäure und Serumalbumin — hervorzurufen imstande war.

Die Versuche, zu denen ich nebst einer 5proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion (aus gewaschenen Blutkörperchen so hergestellt, dafs die mit physiologischer NaCl-Lösung bereitete Emulsion die gleiche Menge Blutkörperchen enthielt, wie wenn sie aus 5 Teilen Blut und 95 Teilen physiologischer NaCl-Lösung bereitet worden wäre) eine Lösung von sapo medicinalis in physiologischer NaCl-Lösung (1 : 1000) und eine Suspension von Ölsäure verwendet habe, welche durch Schütteln einiger Tropfen dieser Säure mit physiologischer NaCl-Lösung und Filtration hergestellt war (was eine schwach opalisierende Flüssigkeit ergeben hat) haben folgendes gezeigt:

Eine konzentrierte Lösung von Serumalbumin (in physiologischer NaCl-Lösung) hebt, wie schon oben mitgeteilt wurde, die hämatolytische Wirkung einer entsprechenden Menge von Seife auf.[1]) Wird aber dem Gemenge von Seifen- und Serumalbuminlösung Ölsäure zugesetzt, aber nur in solcher Menge, welche für sich selbst noch keine Hämatolyse bewirkt, so tritt wieder Hämatolyse auf.

Die zur Aktivierung des Seifealbumingemisches eben nötige Ölsäuremenge ohne Seife (in gröfserer Menge angewandt wirkt sie schon allein hämatolytisch) bringt die Blutkörperchen nur zur Agglutination (agglutinierter Zentrifugenrückstand), ganz

[1]) Erst nach längerem Stehen zeigt sich wieder Hämatolyse, offenbar darum, weil sich die Eiweifsseifeverbindung mit der Zeit wieder zersetzt.

so, wie es inaktiviertes hämatolytisches Immunserum allein tut.

Wird nun ein solches durch Zusatz von Ölsäure aktiviertes Gemenge von Seifen- und Serumalbuminlösung eine halbe Stunde auf 56° erwärmt (noch viel sicherer geht man, wenn man auf 60° erwärmt und die doppelte der im nächsten Versuch angegebenen Menge von Ölsäure-Emulsion verwendet), so wird es vollständig inaktiviert, ganz so wie Immunserum. Es bleibt nur die agglutinierende Wirkung übrig.

Wird diesem bei 56° inaktiviertem Gemenge wieder etwas Seifenlösung mit oder ohne Serumalbumin zugefügt, so wird es reaktiviert.

Das Mitgeteilte ergibt sich aus folgender Versuchsreihe:

	Seifenlös.	Serumalb.-lösung	Ölsäurem.			Schweineblutk.-Emuls.
1.	1 ccm +	θ			+ 3,1 ccm phys. NaCl	+ 2 ccm
2.	1 ›	+ 2 ccm +	θ		+ 1,1 › › ›	+ 2 ›
3.	1 ›	+ 2 ›	+ 0,1 ccm		+ 1,0 › › ›	+ 2 ›
4.	1 ›	+ 2 ›	+ 0,1 ›	auf 56° erwärmt	+ 1,0 › › ›	+ 2 ›
5.	1 ›	+ 2 ›	+ 0,1 ›	› › ›	+ 1,0 › Seifenlösung	+ 2 ›
6.	θ	+ 2 ›	+ 0,1 ›	nicht erwärmt	+ 2,0 › phys.NaCl.-L.	+ 2 ›
7.		θ	+ 0,1 ›		+ 4,0 › › ›	+ 2 ›

Die einzelnen Lösungen wurden in der oben angegebenen Reihenfolge zugesetzt.

Zunächst wurde nach dem Durchschütteln, bei Zimmertemperatur beobachtet.

Schon nach ganz kurzem Stehen war Nr. 1 komplett hämatolysiert, hierauf Nr. 5 (das reaktivierte Gemisch und Nr. 3). In den übrigen Proben noch keine Hämatolyse zu bemerken. Sie werden nun in den Thermostaten (37°) gestellt und nach $^3/_4$ Stunden herausgenommen und zentrifugiert: Nr. 2 schwache Hämatolyse; Nr. 4 keine Spur von Hämatolyse; Zentrifugenrückstand stark agglutiniert.

Nr. 6 }
Nr. 7 } wie Nr. 4.

Es mag noch ein anderer, vollständiger Versuch, bei welchem zur Reaktivierung ein Gemisch von Seifen- und Serumalbuminlösung verwendet wurde, hier Platz finden:

1.	1 ccm Seifenlös.								
2.	1	»	»	+ 2 ccm Serumalb.-Lös.					
3.	1	»	»	+ 2	»	»	+ 0,2 ccm Ölsäure-Emuls.		
4.	1	»	»	+ 2	»	»	+ 0,2	»	»
5.	1	»	»	+ 2	»	»	+ 0,2	»	»
6.	1	»	»	+ 2	»	»			
7.	1	»	»	+ 2	»	»			
8.				2	»	»	+ 0,2	»	»

Nr. 4, 5, 6, 7 wurden eine halbe Stunde auf 60° gehalten, die Zeit, bis die Lösungen diese Temperatur erreichen, nicht inbegriffen. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurden den Gemengen 5 und 7 Gemische, bestehend aus 2 ccm Serumalbuminlösung und 1 ccm Seifenlösung zur Reaktivierung zugefügt, dann wurde mit phys. NaCl-Lösung komplettiert und zu sämtlichen Proben 2 ccm 5 proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion zugesetzt. Sie wurden in den Thermostaten gestellt (37°). Das Ergebnis war folgendes:

Nr. 1 war schon nach 5 Minuten komplett hämatolysiert, die übrigen unverändert.

Nach $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden zentrifugiert:

Nr. 2 schwache Hämatolyse;
» 3 und 5 fast vollständig hämatolysiert;
» 4 keine Hämatolyse;
» 6 » »
» 8 » »
» 7 stark hämatolysiert, aber noch nicht vollständig.

Nach Durchschütteln blieben sämtliche Proben 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen.

Nr. 1, 3, 5 vollständige Hämatolyse;
» 2 und 7 ungefähr gleich, enthalten noch viel ungelöste Blutkörperchen;
» 4, 6 und 8 keine Hämatolyse, zentrifugierte Flüssigkeit fast ungefärbt. Am wenigsten gefärbt Nr. 8.

(Nach so langem Stehen sieht man an der Berührungsstelle der Blutkörperschichte mit der überstehenden Flüssigkeit endlich überall rot gefärbte schmale Ringe, die aber mit dieser Reaktion nichts zu tun haben.)

Dieser Versuch hat also zweifellos ergeben:

1. dafs das Serumalbumin die Wirkung der Seife wenn auch nicht aufhebt, doch wesentlich vermindert (Nr. 1 und 2);

2. dafs die Gegenwart von Ölsäure, obwohl sie in der gleichen Menge angewendet für sich allein nach Nr. 8 keine Spur von Hämatolyse bewirkt, die schädigende Wirkung des Serumalbumins wenigstens zum grofsen Teil wieder aufhebt (Nr. 2 und 3);

3. dafs durch Erwärmen auf 60° sowohl ölsäurehaltige als ölsäurefreie Gemenge von Seife und Serumalbumin inaktiviert, aber durch nachherigen Zusatz von Seife wieder reaktiviert werden können (Nr. 4 und 6 bezw. 5 und 7), dafs aber auch hier die die Hämatolyse befördernde Wirkung der für sich allein unwirksamen Ölsäure zur Geltung kommt (5 und 7).

Gemenge, welche Seife, Ölsäure und Serumalbumin in obigen Verhältnissen enthalten, verhalten sich also dem hämatolytischen Immunserum überraschend ähnlich und es ist nicht zu verkennen, dafs hier die Ölsäure gewissermafsen die Rolle eines Immunkörpers, die Seife diejenige eines Komplementes spielt.

Der Mechanismus der betreffenden Reaktionen scheint mir nach allem Vorgebrachten nicht schwer verständlich zu sein. Er dürfte in folgendem bestehen:

Die Seife wirkt hämatolytisch, indem sich die Fettsäure mit dem Stroma, das Alkali aber mit dem Hämoglobin verbindet.

Die Wirkung der Seife wird vom Serumalbumin aufgehoben, weil es zunächst dieses ist, welches sich mit der Seife verbindet.

Die Serumalbumin-Seife-Verbindung wird von Ölsäure aktiviert, weil diese die Fähigkeit hat, jene Serumalbuminverbindung zu zersetzen und die Seife wieder freizumachen. Möglicherweise entsteht aber auch ein saures, fettsaures Alkali, welches allein oder auch in Verbindung mit Albumin die Fähigkeit hat, Blutkörperchen zu zersetzen unter Bildung einer entsprechenden Stromaverbindung (fettsaures und albuminsaures Stroma) und Hämoglobin-Alkali-Verbindung.

Bei der Inaktivierung bei 56° oder 60° scheint die Seife mit dem Albumin eine festere Verbindung einzugehen, welche von der

Ölsäure nicht mehr zersetzt wird und daher nicht mehr hämatolytisch wirkt. Es bleibt nur die Ölsäure frei, welche dann auch ihre agglutinierende Wirkung entfaltet, ähnlich wie es ja das inaktivierte Serum selbst tut.

Ich habe mich nun gefragt, ob man Schweineserum durch Zusatz von sehr geringen Mengen von Olsäure, welche die alkalische Reaktion des Serums kaum wesentlich ändern, für Schweineblutkörperchen hämatolytisch machen und es durch Hitze ebenso inaktivieren kann wie Immunserum.

Das ist nun in der Tat der Fall.

Ich habe 10 ccm Schweineblutserum 0,05 ccm frisch bereiteter Olsäure-Emulsion zugesetzt und mit dieser Flüssigkeit — **A** — folgenden Versuch gemacht:

1.	3 ccm Schweineser. +		+ 2 ccm Schweineblutk.-Em.
2.	2 » »	+ 1 ccm **A**	+ 2 » »
3.	2 » »	+ 1 » » auf 56° erhitzt	+ 2 » »

Nach $^3/_4$stündigem Stehen im Thermostaten:

1. keine Spur von Hämatolyse,
2. vollständige Hämatolyse,
3. keine Spur von Hämatolyse.

Es soll aber nicht verschwiegen werden, dafs eine Reaktivierung mit frischem Serum leider nicht mit Sicherheit gelungen ist; vielleicht darum, weil ich jene Inaktivierungstemperatur nicht getroffen habe, welche für dieses Gemenge gerade nötig ist.

Ich stelle mir also vor, dafs die Immunkörper Stoffe sind, welche, ähnlich wie die Ölsäure wirkend, wahrscheinlich säureartigen Charakter haben. Sie werden vom Organismus unter dem Reize der körperfremden Zellen, der Bakterien etc., abgeschieden und bringen, nach dem oben mitgeteilten Schema, die im Blutplasma stets vorhandenen Seifen — vielleicht auch andere ähnliche Verbindungen (gallensaure Salze?) — zur Wirkung. Diese Seifen wären also, wenigstens in gewissen Fällen, die Komplemente.

Die spezifische Wirkung eines Serums aber liefse sich damit erklären, dafs unter dem Reize ihrer Natur nach verschiedener körperfremder Zellen etc. ebenso ver-

schiedene Immunkörper (Säuren) abgespalten werden, vielleicht aber auch verschiedene Komplemente oder auch andere Serumbestandteile, mit denen die Immunkörper bzw. Komplemente leichter oder weniger leicht wirksame, bzw. unwirksame Verbindungen eingehen. Dieser letztere Gesichtspunkt dürfte meiner Ansicht nach bei weiteren einschlägigen Versuchen nicht mehr vernachlässigt werden, da meine Versuche ja erwiesen haben, wie sehr die Aktivität meines hämatolytischen Serums von der Reaktion (der Hydroxyl-Ionen-Konzentration) desselben, ferner auch von anderen Bestandteilen (Kalk- und Magnesiumsalzen) abhängt.

Ich halte es daher für ganz gut möglich, dafs viele negative Befunde bei Versuchen, welche zur Entscheidung der Frage vorgenommen wurden, ob nach Einverleibung eines bestimmten Mikroorganismus Immunserum gewonnen werden kann oder nicht, nur scheinbar solche negative Befunde sind und dafs man bei genauerem Zusehen vielleicht finden wird, dafs die gesuchten Schutzstoffe vorhanden waren, ihre Wirkung aber durch Nebenumstände, wie die oben angedeuteten, verdeckt wurde.

Von welchen scheinbar geringfügigen Dingen, in Wirklichkeit aber bedeutsamen chemischen Reaktionen und Gleichgewichtszuständen die Wirkung eines Serums abhängen kann, dafür mag folgender Versuch sprechen, der zugleich das Zusammenwirken meines künstlichen hämatolytischen Immunkörpers, der Ölsäure, mit Normalserum in eklatanter Weise demonstriert.

Um eine möglichst gut verteilte Emulsion von Ölsäure zu erhalten, habe ich 20 ccm physiologische NaCl-Lösung mit 0,5 ccm Olsäure und 1 ccm normalem Schweineblutserum tüchtig geschüttelt. Diese Emulsion wollen wir **O** nennen.

Gibt man 0,2 ccm **O** zu 2 ccm 5 proz. Schweineblutkörperchen-Emulsion und dann hiezu (zur Komplettierung) noch 2 ccm physiologischer NaCl-Lösung, so bleibt das Gemisch ziemlich lange anscheinend unverändert trübe; Hämatolyse tritt nur langsam ein, und es dauert ziemlich lange, bis sie vollständig wird.

Fügt man aber dem Gemische von 0,2 ccm **O** und 2 ccm Schweineblutkörperchen-Emulsion 2 ccm Schweineblutserum zu, so tritt fast momentan vollständige Hämatolyse ein.

(Schweineblutserum ist natürlich ohne 0 vollständig unwirksam.) Dieser Versuch zeigt also, dafs eine rasche und ausgiebige Hämatolyse nur dann eintritt, wenn die beiden Stoffe — die als Immunkörper fungierende Ölsäure und das Normalserum — zusammenwirken. Ölsäure-Emulsion allein wirkt viel langsamer, Serum gar nicht.

Wird aber der Versuch nun in der Weise umgekehrt, dafs man 0,2 ccm 0 nicht direkt zu den Blutkörperchen gibt, sondern mit 2 ccm Serum mischt, und fügt man nun dieses Gemisch zu der Blutkörperchen-Emulsion, so tritt bei Zimmertemperatur, bei welcher diese Versuche vorgenommen werden, auch nach mehrstündigem Stehen keine Hämatolyse ein.

Die Ölsäure hat offenbar ihren nächsten Angriffspunkt, welcher im ersten Versuch das Blutkörperchen selbst war, gewechselt. Man kann annehmen, dafs die Blutkörperchen im ersteren Falle durch die Ölsäure für den Angriff des Blutserums vorbereitet, präpariert waren, denn es gelang mir, die Ölsäure von den Blutkörperchen wieder zu trennen und sie als solche zu identifizieren.

Zum Schlusse sei mir noch folgende kurze Bemerkung gestattet.

Es drängt sich natürlich die Frage auf, wie sich meine Erfahrungen zur Seitenkettentheorie Ehrlichs verhalten?

Meiner Ansicht nach lassen sie sich, soweit die Sache bis jetzt zu überblicken ist, mit jener Theorie recht gut vereinen. Zunächst präjudiziert sie ja der Natur des Immunkörpers in keiner Weise. Die Seitenketten können ebenso Säuren wie etwas anderes sein.

Ob der Immunkörper nach Ehrlichs Vorstellung ein Amboceptor (oder Polyceptor) ist, und ob die Ölsäure in meinem Versuche derartig aufgefafst werden soll, ist allerdings nicht sichergestellt, allein ich sehe nichts, was entschieden dagegen spräche. Sie ist, wie ich direkt nachweisen konnte, jedenfalls imstande, sich auch mit den Blutkörperchen zu verbinden, ja es beschleunigt die Hämatolyse, wenn das vorher — vor dem Zusatz normalen

Serums — geschehen ist. Dafs dies auch im Sinne Bordets und Grubers als Sensibilisierung oder Präparierung aufgefafst werden kann, spielt einstweilen keine Rolle.

Was schliefslich das Komplement betrifft, so kann man sich recht gut vorstellen, dafs das, was Ehrlich so nennt, eigentlich nichts anderes ist als eine Verbindung von Seife mit einem Eiweifskörper und dafs dessen »toxophore Gruppe« die Seife selbst ist, welche durch die Reaktion des Immunkörpers (z. B. der Olsäure in meinem Versuche) freigemacht wird und so zur Wirkung gelangt.

Die Bedeutung der durch Hetol (zimtsaures Natron) hervorgerufenen Hyperleukozytose bei der intravenösen und subkutanen Milzbrandinfektion des Kaninchens.

Von

Gottfried Boehm.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Prof. M. Gruber.)

Durch die Beobachtungen von Gruber und Futaki[1]) wurde die Aufmerksamkeit wieder auf die Phagozyten als kräftige Vernichter der Milzbrandbazillen hingelenkt. Es war auf Grund dieser Beobachtungen die Vermutung gerechtfertigt, dafs der grofse Unterschied der Gefährlichkeit intravenöser und subkutaner Einverleibung von Milzbrandbazillen, der von Noetzel[2]) beobachtet worden ist, seine Erklärung finden könnte, und ich unternahm auf Veranlassung von Herrn Obermedizinalrat Prof. Dr. Max Gruber Versuche über den Einflufs der Hyperleukozytose auf den Erfolg der Infektion des Kaninchens mit genau abgestuften Dosen von virulenten Milzbrandbazillen.

Derartige Versuche sind schon von verschiedenen Autoren angestellt worden. Nachdem durch die Untersuchungen von Metschnikoff festgestellt war, dafs die Leukozyten bei der Bekämpfung bakterieller Invasionen in den tierischen Organis-

1) Zentralbl. f. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten, Bd. 38, 1906. Beiheft.

2) Archiv f. klinische Chirurgie, 1900.

mus eine grofse Rolle spielen, wurde bald versucht, durch künstliche Vermehrung der Leukozyten im Blute die Widerstandskraft von Versuchstieren gegen Infektionen zu steigern.

Noch bevor die Wirkung der Hyperleukozytose auf bakterielle Infektionen allgemein bekannt war, fanden Wooldridge[1]), Wright[2]), Zacharoff[3]), Brieger, Kitasato und Wassermann[4]) und Grammatschikoff[5]), dafs nach Injektion von Thymus-, Hoden-, Lymphdrüsen- und Spermaextrakten die Widerstandskraft der Versuchstiere gegen Milzbrand gesteigert wurde, und man glaubte, dafs diesen Stoffen spezifisch immunisierende Kräfte eigen seien. Erst aus späteren Versuchen ging hervor, dafs die Erklärung der günstigen Wirkung in der von diesen Stoffen hervorgerufenen Hyperleukozytose zu suchen ist.

Die Mehrzahl der Autoren bedienten sich dann nicht des Milzbrandbazillus, um den Einflufs der Hyperleukozytose zu studieren, sondern anderer Krankheitserreger. So schützte Victor Vaughan[6]) Kaninchen durch Injektion von Nukleïnsäure vor den schädlichen Folgen einer Infektion mit dem Diplococcus pneumoniae, und Loevy und Richter[7]) teilten in einem kurzen Bericht ebenfalls günstige Resultate der Hyperleukozytose bei der Pneumokokkeninfektion mit.

Dann folgte die sehr eingehende Arbeit von Jacob.[8]) Dieser injizierte seinen Versuchskaninchen Lösungen von Albumosen, und da durch diese nicht nur eine Vermehrung der Leukozyten, sondern, dieser vorausgehend, auch eine starke Hypoleukozytose verursacht wird, konnte er sowohl den Einflufs der Hypo- als auch den der Hyperleukozytose auf die

1) Wooldridge, Archiv für Anatomie und Physiologie, physiol. Abt. Bd. III, 1883.

2) Wright, Brit. med. Journ., 1891.

3) Zacharoff, Zentralblatt für Bakteriologie, 17.

4) Brieger, Kitasato u. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12.

5) Grammatschikoff, Annales de l'institut Pasteur, 1893.

6) Kongrefs in Budapest (Ref. Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 16).

7) Deutsche med. Wochenschr., 1895.

8) Zeitschr. f. klin. Medizin, 1896.

Pneumokokkeninfektion studieren. Er fand, »dafs wenn ein Tier im Stadium der durch subkutane oder intravenöse Injektion bedingten Hypoleukozytose infiziert wurde, dasselbe stets zugrunde ging, und zwar meist schneller als das betreffende Kontrolltier. Dagegen war es von äufserst günstigem Einflufs auf den Krankheitsverlauf, wenn die Infektion zur Zeit der Hyperleukozytose geschah, und zwar im aufsteigenden Ast derselben.«

Blumreich und Jacobi[1]) steigerten die Leukozytenzahl bei Kaninchen durch Milzexstirpation und fanden, dafs bei Pyocyaneus- und Cholera-Infektion die Widerstandskraft der entmilzten Tiere gegen die der normalen bedeutend gestiegen war.

Im Jahre 1898 veröffentlichten Loevy und Richter[2]) ihre schon 1895 kurz mitgeteilten und bis dahin weiter ausgeführten Versuche über den Einflufs der Hyperleukozytose auf Hühnercholerabazillen und Pneumoniediplokokken. Als leukozytoseerregende Mittel kamen, — abgesehen von dem wegen seiner Nebenwirkungen bald verlassenen Pilokarpin — Spermin und Nukleïn zur Verwendung. Die Erfolge bei den Hühnercholerainfektionen waren geringe. Am günstigsten gestalteten sich die Versuche mit den Pneumokokken.

Über den Einflufs der Hyperleukozytose auf die Milzbrandinfektion finden wir nur Angaben von Pawlowsky[3]), M. Hahn[4]) und Blumreich und Jacobi.[5]) Pawlowsky sah nach Injektion leukozytoseerregender Proteïne günstige Wirkung auf die Milzbrandinfektion. Hahn benutzte zur Vermehrung der Leukozyten »ein Albumosengemenge, das aus feuchtem Fibrin durch Verdauung mit 2proz. Papajotinlösung hergestellt war ....« Der Erfolg der Hyperleukozytose bestand meist in einer Verzögerung des Verlaufs der Milzbrandinfektion, aber

1) Berliner klin. Wochenschr., 1897, S. 444.
2) Virchows Archiv, Bd. 151, S. 220.
3) Mitteilungen des XI. internationalen Kongresses.
4) Archiv f. Hygiene, Bd. 28, 1897.
5) a. a. O.

nur in zwei Fällen trat vollkommene Heilung ein. Hahn schiebt die Schuld der geringen Wirkung hauptsächlich auf den Umstand, dafs die Hyperleukozytose beim Kaninchen nach einmaliger Injektion des die Leukozyten anlockenden Mittels von sehr kurzer Dauer zu sein pflegt. Blumreich und Jacobi endlich fanden im Gegensatz zu ihren Erfolgen gegen Pyocyaneus- und Cholerainfektion nach Exstirpation der Milz bei Milzbrandinfektion keinen Unterschied gegen die Normaltiere.

Durch die bisher veröffentlichten Versuche ist also der schädigende Einflufs der Hyperleukozytose auf eine ganze Reihe pathogener Mikroorganismen unzweifelhaft festgestellt. Nur beim Milzbrand waren die Erfolge schwankend, und da dieser Bazillus, wie u. a. auch neuerdings aus Versuchen von R. Schneider, Gruber und Futaki hervorgeht, bezüglich seines Verhaltens im tierischen Organismus gewissermafsen eine Sonderstellung einnimmt, war es von besonderem Interesse, die vorhandenen Erfahrungen durch neue Versuche zu erweitern.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde zur Erzeugung der Hyperleukozytose stets das Hetol (zimtsaures Natron) Landerer verwendet. Landerer[1]) selbst stellte seit dem Jahre 1882 zahlreiche Versuche über die Wirkung der Zimtsäure und ihrer Salze am tierischen und menschlichen Organismus an und kennzeichnet sie als ungiftige, weder Blut noch Nieren schädigende Stoffe. — Im selben Sinne äufserten sich u. a. Richter[2]) und Spiro[3]), die auch speziell die Wirkung der Zimtsäure auf das Blut untersuchten. Ihre hierauf bezüglichen Ergebnisse seien in Kürze hier zusammengefafst.

Sie benutzten zur intravenösen Injektion beim Kalt- und Warmblüter 1—5proz. Lösungen von zimtsaurem Natrium und

---

1) Münchener med. Wochenschr., 1888, 1889.
Deutsche med. Wochenschr., 1890 und 1893.
›Die Behandlung der Tuberkulose mit Zimtsäure‹, 1892.
Vortrag auf dem Tub.-Kongrefs Berlin 1899.
Berliner Klinik 1901.

2) Virchows Archiv, Bd. 133.

3) Inaug.-Dissert., 1893.

2) u. 3) Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol., 1894.

fanden, was zunächst die Zahlenveränderungen der Leukozyten anlangt, im Durchschnitt 3—4 Stunden nach einmaliger Injektion eine etwa 3—4 fache Vermehrung, die bis über 90% auf Rechnung der polynukleären Formen zu setzen war. Zum Vergleich mit meinen, weiter unten angeführten Resultaten sei hier kurz eine ihrer Tabellen wiedergegeben:

Versuch mit einer Lösung von zimtsaurem Natrium (injiziert 0,5 g in die Ohrvene eines Kaninchens):

Vor der Injektion	9 406	Leukozyten
2 Stunden nach der Injektion	13 736	»
4 » » » »	34 204	»
20 » » » »	16 122	»
24 » » » »	8 100	»

Bezüglich der Arten der Leukozyten stellten Richter und Spiro fest, dafs, wie schon oben erwähnt, die polynukleären Zellen in der Überzahl waren; sie fanden im Durchschnitt ein Anwachsen der polymorphkernigen Formen um 20—30%.

Um mich durch eigene Anschauung von der Wirkungsweise des Hetols zu überzeugen, prüfte ich die bezüglich der farblosen Blutzellen oben zitierten Ergebnisse nach und konnte sie im grofsen und ganzen bestätigen. Es sei mir gestattet, mein Vorgehen, da es bei allen Versuchen das gleiche war, etwas eingehender zu schildern.

Es kam stets eine 5 proz., d. h. nahezu gesättigte Hetollösung in physiologischer Kochsalzlösung zur Verwendung. Diese wurde vor der Injektion stets filtriert und 7—10 Minuten im kochenden Wasserbad sterilisiert. Dann wurden regelmäfsig 10 ccm dieser Lösung (also 0,5 g Hetol in Substanz) nach Rasur und Sterilisierung der betreffenden Ohrpartie in die grofse Sammelvene des Ohrs injiziert. Geringere Mengen und weniger konzentrierte Lösungen hatten keine so prompte und hohe Hyperleukozytose zur Folge. Es wurde daher von Anfang an von der Verringerung des Injektionsquantums Abstand genommen. Ich sah auch, mit Ausnahme von 2—3 Fällen, in denen die Tiere eine schnell vorübergehende Schwäche zeigten, niemals einen ungünstigen Einflufs der Hetolinjektion.

Schon 2—4 Stunden nach der Injektion erreichte die Zahl der Leukozyten in der Regel den 2—4fachen Wert der Norm, und schon im Laufe der 4. bis 5. Stunde war der Höhepunkt überschritten. Zur Illustration seien einige Versuche wiedergegeben.

Protokolle:

Kaninchen Nr. 19. — 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in die Ohrvene injiziert, vorher Zählung der Leukozyten:

Vor der Injektion	8 800	Leukozyten
5 Stunden nach der Injektion . . .	29 000	»
7 » » » » . . .	13 000	»

Kaninchen Nr. 23. — 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in die Ohrvene injiziert, vorher Zählung der Leukozyten:

Vor der Injektion	6 400	Leukozyten
2 1/2 Stunden nach der Injektion . .	21 400	»
3 1/2 » » » » . .	21 200	»
4 1/2 » » » » . .	16 000	»

Kaninchen Nr. 24. — 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in die Ohrvene injiziert, vorher Zählung der Leukozyten:

Vor der Injektion	8 200	Leukozyten
2 1/2 Stunden nach der Injektion . .	23 000	»
3 1/2 » » » » . .	20 800	»
4 1/2 » » » » . .	15 000	»

Es ist also bei meinen Versuchen der Ablauf der Hyperleukozytose ein etwas schnellerer gewesen als bei denen von Richter und Spiro; solche geringe Unterschiede erklären sich aber wohl ohne weiteres durch die Schwankungen in der Reaktionsweise verschiedener Kaninchenarten.

Da ich bei der Durchsicht der Literatur eine Angabe von F. Charteris und E. Provau-Cathart[1]) fand, welche, entgegen den Aufstellungen von Landerer, Richter und Spiro[2]) behaupten, dafs nach der intravenösen Hetolinjektion beim Kaninchen die Vermehrung der Leukozyten beinahe völlig durch die mononukleären Formen bewirkt sei, kontrollierte ich auch das Blutbild vor und nach der Injektion. Die Blutpräparate wurden zu diesem Zweck nach der Mayschen Methode herge-

---

1) Journ. f. Pathol. u. Bakteriol. 10, zitiert nach Malys Jahresber. 1904/05.
2) a. a. O.

stellt und gefärbt, und es ergaben sich folgende Verhältniszahlen:

A. Zahl der Leukozyten vor dem Versuch	8 800
davon: grofse einkernige Leukozyten	14 %
Lymphozyten	69 %
polynukleäre Leukozyten	17 %.

Als absolute Zahlen wurden aus den Prozentzahlen berechnet:

grofse einkernige Leukozyten	1 232
Lymphozyten	6 072
polynukleäre Leukozyten	1 496.

B. Zahl der Leukozyten $4\frac{1}{2}$ Stunden nach der Hetolinjektion	22 000
davon: grofse einkernige Leukozyten	4 %
Lymphozyten	46 %
polynukleäre Leukozyten	50 %.

Als absolute Zahlen wurden aus den Prozentzahlen berechnet:

grofse einkernige Leukozyten	880
Lymphozyten	10 120
polynukleäre Leukozyten	11 000.

Wenn ich auch so hohe Prozentsätze der polymorphkernigen Zellen, wie sie Richter und Spiro fanden (— etwa 50% im normalen und bis zu 90% im vorbehandelten Blut) nicht konstatieren konnte, so geht doch ebenfalls aus dem angeführten Beispiel hervor, dafs die polynukleären Formen die Hauptrolle bei der durch Hetol hervorgerufenen Hyperleukozytose spielen. Wenn auch die Zahl der Lymphozyten eine geringere Zunahme erfährt, so kann doch von einer überwiegenden Vermehrung dieser Zellen nicht die Rede sein.

Bevor ich daran gehen konnte, den Einflufs der Hetolvorbehandlung auf die Milzbrandinfektion zu studieren, mufste ich zunächst für den mir zur Verfügung stehenden Milzbrandstamm die Maximaldosen, ausgedrückt durch die mit Hilfe des Plattenverfahrens kontrollierten Zahlen der eingeführten Milzbrandkeime, feststellen. Über die Grenzwerte der von Kaninchen vertragenen Milzbrandkeimzahlen lagen, wie ich bereits eingangs erwähnt habe, ausführliche Versuche von W. Noetzel[1]) vor, und es

1) a. a. O.

handelte sich im wesentlichen um Nachprüfung seiner Resultate im Sinne der Feststellung eines eventuellen Unterschiedes seines und meines Milzbrandstammes.

In seinen Untersuchungen über die Wege der Bakterienresorption von frischen Wunden konstatierte Noetzel, dafs 2000 Keime eines Milzbrandstammes intravenös und intraperitoneal gut vertragen wurden, während 50 Keime desselben Stammes, subkutan appliziert, sicher tödlich wirkten. Bei der intravenösen Infektion bediente er sich der Vena jugularis. Diese wurde ausgiebig freigelegt und das Operationsfeld durch sterile Gaze vor etwa daneben geratener Bakterienaufschwemmung geschützt. Nach doppelter Unterbindung wurde dann das durch die Injektion verletzte Venenstück reseziert. Er selbst erwähnt in seiner Arbeit Bunges Verfahren, der die Ohrvene zur Infektion benutzte und das betreffende Ohr nach drei Minuten mit dem Paquelin amputierte, um zu verhindern, dafs an der Einstichstelle sich festsetzende und zur Vermehrung kommende Milzbrandkeime von da sekundär in die Blutbahn gelangten, und so eine genaue intravenöse Dosierung unmöglich machten.

Bei der Feststellung der Virulenz unseres Stammes bediente ich mich, wie Bunge, der Ohrvene, da Noetzels Verfahren viel schwieriger ohne Infektion der Wunde auszuführen ist, und da ich fürchtete, dafs die grofse Wunde am Hals einen locus minoris resistentiae gegenüber einer sekundären Milzbrandinfektion vom Blute aus bilden könnte.

Die die Einstichstelle enthaltende Ohrpartie schaltete ich teils durch Abklemmen, teils genau nach Bunges Vorgehen, durch Abtragen mit dem Paquelin aus dem Kreislauf aus. Die Klemme blieb liegen, bis das distale Ende durch trockene Gangrän abgestofsen war, was innerhalb weniger Tage geschah.

Die subkutane Infektion erfolgte stets in das Unterhautzellgewebe am Bauche, nachdem die betreffende Hautstelle rasiert und nach Möglichkeit sterilisiert war.

Zur Infektion dienten 7—8 Stunden bei 37° gezüchtete Agarstrichkulturen, also ein aller Wahrscheinlichkeit nach völlig sporenfreies Material. Nach feiner, etwa 2—3 Minuten langer

Zerteilung und Zerreibung einer kleinen, mit dem Plattenmikroskop als rein erkannten Partie der Kultur auf dem Nährboden wurde die geeichte Öse gefüllt, auf beiden Seiten glatt verstrichen und dann in 0,85 proz. steriler Kochsalzlösung, der auf 100 ccm 1,0 ccm steriler Bouillon beigemengt war, aufgeschwemmt. Auf diese Weise konnte die beabsichtigte Keimzahl fast immer durch die entsprechenden Verdünnungen erreicht werden. Bei allen Infektionen wurde die Dosis durch das Plattenverfahren kontrolliert. Nach der Infektion des Tieres wurden stets behufs Feststellung der Zahl der injizierten Keime en t weder mit derselben Pravazspritze, die zur Injektion bentuzt worden war oder mittels geeichter Kapillarpipetten genau gemessene Mengen derselben Bakterienaufschwemmung zu Gelatine- oder Agarplatten verarbeitet.

Die folgenden Tabellen enthalten die Resultate meiner sämtlichen Versuche am normalen Tier. Aufserdem sei es mir gestattet, die Ergebnisse von Versuchen beizufügen, die Herr Dr. K. Futaki mit demselben Milzbrandstamm erhalten und mir in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt hat. Es sei dazu noch erwähnt, dafs Futaki zur intravenösen Infektion in der Mehrzahl der Fälle die vena jugularis benutzte. Nur in zwei Fällen bediente er sich der Ohrvene. Die subkutanen Impfungen wurden wie die meinigen ausgeführt.

A. Subkutane Infektion.

Nr. des Versuchstiers	Gewicht g	Keimzahl	Lebensdauer	Todesursache	Ödem	Bemerkungen
7	3000	20	überlebt	—	—	—
29	2200	25	16 Tage	nicht Milzbrand	—	—
30	2500	50	überlebt	—	—	—
31	2300	75	5 Tage	Milzbrand	+	—
50	1470	200	überlebt	—	—	wahrscheinlich refraktär
56	1600	200	3 Tage	Milzbrand	+	—
59	2170	900	überlebt	—	—	wahrscheinlich refraktär
62	2300	5000	2 Tage	Milzbrand	+	—
67	2520	5000	3 Tage	Milzbrand	+	—

A$_1$. Subkutane Infektion nach Futaki.

Nr. des Versuchstiers	Gewicht g	Keimzahl	Lebensdauer	Todesursache
477	2200	75	7 Tage	nicht Milzbrand
478	2100	75	überlebt	—
479	2300	75	7 Tage	nicht Milzbrand
474	2000	90	überlebt	—
475	2100	90	14 Tage	nicht Milzbrand
476	2200	90	18 »	» »
465	2950	100	5 »	Milzbrand
466	2950	100	7 »	»
467	2350	100	9 »	»
468	1720	100	8 »	»
469	2200	100	8 »	»
470	1900	100	8 »	»
471	3020	100	7 »	»
472	3020	100	8 »	»
473	3170	100	5 »	»

B. Intravenöse Infektion.

Nr. des Versuchstiers	Gewicht g	Keimzahl	Lebensdauer	Todesursache	Ödem am Ohr
11	1950	1000	überlebt	—	—
13	1800	1500	4 Tage	Milzbrand	—
15	2000	2000	überlebt	—	—
14	1700	2500	3 Tage	Milzbrand	—
9	2000	3000	3 »	»	—
34	2300	3000	3 »	»	—
33	2330	4500	3 »	»	—
32	2350	6000	3 »	»	—

B$_1$. Intravenöse Infektion nach Futaki.

Nr. des Versuchstiers	Gewicht g	Keimzahl	Lebensdauer	Todesursache	Infektionsstelle
607	2200	60	überlebt	—	V. jugularis
615	2070	140	»	—	»
538	1750	640	»	—	Ohrvene
535	1750	1070	»	—	»
543	?	1210	»	—	V. jugularis
546	2200	1430	14 Tage	nicht Milzbrand	»

Es ergibt sich aus diesen Tabellen, dafs man Kaninchen von 2—3 kg Körpergewicht, mit einer Ausnahme — Tod auf 1500 Keime — bis zu 2000 Keime in die Blutbahn bringen konnte, ohne dafs irgendeine nachteilige Wirkung für das Tier zu konstatieren gewesen wäre. Bei subkutaner Impfung wurden 50 Keime mit Sicherheit vertragen, während Infektionen mit über 100 Keimen stets tödlich verliefen. Zu diesen Zahlen mufs bemerkt werden, dafs unser Milzbrandstamm in langen Fäden wächst, so dafs ein einziger Faden eine sehr grofse Zahl von Zellen enthält. Die tödlichen Dosen des von mir verwendeten Milzbrandstammes decken sich also fast genau mit den von Noetzel gefundenen Zahlen.

Da der Höhepunkt der Hetol-Hyperleukozytose schon nach 3—4 Stunden erreicht wird, es aber, wie auch Jacob beobachtete (s. oben), für eine ausgiebige Wirksamkeit der Hyperleukozytose von Wichtigkeit ist, dafs die Infektion in den aufsteigenden Ast derselben fällt, applizierte ich die Keime stets 2—2½ Stunden nach der Hetolinjektion. Dem relativ schnellen Absinken der Hyperleukozytose durch eine erneute Hetolgabe vorzubeugen, war aus folgendem Grunde nicht angezeigt. In kurzen Intervallen aufeinanderfolgende Injektionen von 10 ccm in die Blutbahn wären schwerlich ohne Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens geblieben, hätten also die beabsichtigte günstige Wirkung womöglich kompensiert. Aufserdem waren in vielen Fällen beide Ohren, das eine für die Hetol-, das andere für die Milzbrandinjektion verbraucht, und somit keine Möglichkeit mehr gegeben, die Stichwunden späterer Hetolinjektionen aus dem Kreislauf zu eliminieren. Jede frische Wunde hätte aber für durch den Kreislauf verschleppte Keime einen Nährboden geschaffen, und durch die Vermehrung der Milzbrandbazillen an einer solchen Stelle wäre die genaue Dosierung illusorisch gemacht worden.

I. Einflufs der Hetolvorbehandlung auf intravenöse Milzbrandinfektion.

Es wurden im ganzen 14 intravenöse Infektionen nach Vorbehandlung mit 5proz. Hetollösung ausgeführt, von denen fünf wegen zu hoher Dosis (über 6000 Keime) nicht mitangeführt werden sollen. Sie endeten alle fünf tödlich.

Die übrigbleibenden neun verliefen wie folgt:

Protokolle:

A. Tödlich verlaufene Infektionen.

(Die Versuche sind nach der Höhe der Dosis geordnet.)

1. Kaninchen 41. — Gewicht 1900 g.

19. X. ½4 Uhr: Infektion von 10 ccm einer 5proz. Hetollösung in die eine Ohrvene.

½6 Uhr: Infektion mit 2100 Milzbrandkeimen in die Vene des anderen Ohres. Injektionsstellen abgeklemmt.

20. X. Gewicht 1950 g. Keine Ödeme.

22. X. Gewicht 1800 g exitus.

Sektion: Milz vergröfsert.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

2. Kaninchen 26. — Gewicht 2170 g.

10. IX. 3 15 Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5proz. Hetollösung in eine Ohrvene.

5 25 Uhr: Infektion mit 4500 Milzbrandkeimen in dieselbe Vene. Injektionsstellen abgeklemmt.

11. IX.: Gewicht 2020 g. Keine Ödeme.

12. IX.: Gewicht 1940 g. Geringes Ödem proximal der Klemme.

13. IX.: Gewicht 1700 g. Ödem stärker.

14. IX.: Exitus.

Sektion: Milz vergröfsert, am Ohr deutliches Ödem.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

3. Kaninchen 44. — Gewicht 1450 g.

25. X. 3 30 Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5proz. Hetollösung in die eine Ohrvene.

6 Uhr: Infektion mit 4500 Milzbrandkeimen in die andere Ohrvene. Beide Ohren wurden in der Nähe der Wurzel mit dem Paquelin abgetragen.

26. X.: Gewicht 1450 g. Keine Ödeme.

27. X.: Exitus.

Sektion: Beiderseits lobulärpneumonische Herde, Milz vergröfsert.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

4. Kaninchen 39. — Gewicht 2750 g.

19. X. 3 30 Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.

5 30 Uhr: Infektion mit 4900 Milzbrandkeimen in die Vene des anderen Ohres. Injektionsstellen beiderseits abgeklemmt.

20. X.: Gewicht 2700 g. Keine Ödeme.

22. X.: Gewicht 2550 g. An beiden Ohren geringe Schwellung.

23. X.: Gewicht 2550 g. Exitus.

Sektion: Die Ohren proximal der Klemmen, beide deutlich ödematös, Milz vergrößert, Pneumonie beiderseits.

Ausstriche: (Herzblut, Lungen- und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

5. Kaninchen 27. — Gewicht 1700 g.

10 IX 3 25 Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.

5 35 Uhr: Infektion mit 6000 Milzbrandkeimen in dieselbe Ohrvene, Injektionsstellen abgeklemmt.

11. IX.: Gewicht 1720 g. Keine Ödeme.

12. IX.: Gewicht 1700 g. Keine Ödeme.

13. IX.: Gewicht 1670 g. Keine Ödeme.

14. IX.: Exitus.

Sektion: Milz vergrößert.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

6. Kaninchen 43. Gewicht 1800 g.

25. X. 3 15 Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in die eine Ohrvene.

6 Uhr: Infektion mit 6000 Milzbrandkeimen in die Vene des anderen Ohrs. Beide Ohren an der Wurzel mit dem Paquelin abgetragen.

26. X: Gewicht 1880 g. Keine Ödeme.

27. X.: Gewicht 1870 g. Keine Ödeme.

29. X.: Gewicht 1880 g. Exitus.

Sektion: Milz vergrößert.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

B. Überstandene Milzbrandinfektionen.

7. Kaninchen 21. — Gewicht 2570 g.

3. VIII. 11 Uhr Vorm.: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.

5 Uhr Nachm.: Infektion mit 3000 Milzbrandkeimen. Die Injektionsstellen wurden abgeklemmt.

Das Tier lebt ohne Gewichtsabnahme und Krankheitserscheinungen bis zum 15. VIII. An diesem Tage exitus.

Sektion: o. B.
Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) steril.
Todesursache nicht Milzbrand.

8. Kaninchen 40. — Gewicht 2100 g.
19. X. 3^{30} Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene,
5^{30} Uhr: Infektion mit 3500 Milzbrandkeimen in die Vene des anderen Ohrs. Beide Ohren abgeklemmt
20. X.: Gewicht 2150 g. Kein Ödem.
22. X.: Gewicht 2100 g. Geringes Ödem des Ohres, an dem die Hetolinjektion vorgenommen wurde.
23. X.: Gewicht 2150 g. Ödem besteht noch.
24. X.: Gewicht 2126 g. Ödem fast ganz zurückgegangen.
25. X.: Gewicht 2170 g. Ödem verschwunden.
29. X.: Gewicht 1850 g. Kein Ödem.
3. XI.: Gewicht 2150 g. Kein Ödem.
9. XI.: Gewicht 2050 g. Kein Ödem.
19. XI.: Gewicht 1820 g. Kein Ödem. Exitus.

Sektion: Rechte Lunge pneumonisch, rechte Pleura und das Perikard zeigen dicke fibrinöse Auflagerungen, linke Lunge auch leicht pneumonisch, linke Pleura frei.
Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) steril, Lunge: kurzes Stäbchen.
Todesursache nicht Milzbrand.

9. Kaninchen 25. — Gewicht 2000 g.
10. IX. 3 Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.
5^{25} Uhr: Infektion mit 5250 Milzbrandkeimen in die Vene des anderen Ohres. Beide Ohren abgeklemmt.
11. IX.: Gewicht 2020 g. Keine Ödeme.
12. IX.: Gewicht 1980 g. Keine Ödeme.
15. IX.: Gewicht 1850 g. Keine Ödeme.
18. IX.: Gewicht 1650 g. Keine Ödeme.
25. IX.: Gewicht 1650 g. Keine Ödeme.
29. IX.: Gewicht hat nicht mehr abgenommen, die distalen Enden beider Ohren sind abgefallen. Das Tier zeigt keine Krankheitserscheinungen. Die Infektion kann als überstanden betrachtet werden.

Zur besseren Übersichtlichkeit sei diese Versuchsreihe in einer Tabelle (S. 357) kurz zusammengefaſst.

Die Entstehung der Ödeme in den Fällen 2, 4 und 8 kann man sich auf zweierlei Weise erklären. Entweder sind durch den Zug der am Ohr hängenden Klemme kleinere innere Gewebszerreiſsungen verursacht worden, die den Nährboden für eine

sekundäre Ansiedlung und Vermehrung von Milzbrandbazillen abgegeben haben. In diesem Falle wäre also die Schwellung als Milzbrand-Ödem aufzufassen. Eine primäre, lokale Infektion, die durch die Injektion der Bakterienaufschwemmung verursacht worden wäre, ist ohne weiteres auszuschliefsen, da sich der Einstich stets in der Nähe der Ohrspitze befand, und die Klemme, weit davon entfernt, in der Nähe der Ohrwurzel angelegt wurde.

Tabelle I.

Nr. des Versuchs	Zahl der eingebrachten Keime	Ödeme	Gewichtsveränderung in g	Tod an Milzbrand nach	Bemerkungen
1.	2100	—	— 100	3 Tagen	—
7.	3000	—	—	—	—
8.	3500	vorübergehend am Hetolohr	— 280	—	—
2.	4500	am Ohr, das beiden Injektionen diente	— 470	4 Tagen	—
3.	4500	—	—	2 »	—
4.	4900	an beiden Ohren	— 200	4 »	—
9.	5250	—	— 350	—	wahrscheinlich refraktär
5.	6000	—	— 30	4 Tagen	—
6.	6000	—	+ 80	4 »	—

Die andere Erklärung könnte man nach den Beobachtungen Spiros[1]) darin suchen, dafs bei der Injektion der grofsen Menge Hetollösung ein Teil davon in das subkutane Gewebe ausgetreten sei und sich dort eine von dem chemotaktisch wirkenden Hetol leicht verursachte seröse Entzündung ohne Mitwirkung von Mikroorganismen gebildet habe. In allen Fällen von Ohrödem konnten Milzbrandbazillen in der Ödemflüssigkeit mit dem Mikroskop nachgewiesen werden. Dieser positive Befund an sich kann aber noch nicht genügen, um die Ödeme alle als Milzbrandödeme zu kennzeichnen, denn Milzbrandkeime werden während der Agone über das ganze Gefäfssystem verstreut und die im Mikroskop gefundenen könnten aus Kapillaren stammen, die bei dem zur Entnahme der Ödemflüssigkeit unumgänglichen Ein-

1) Inaugural-Dissertation 1893, S. 22.

schnitt angeschnitten worden sind. Die Untersuchung der Ödemflüssigkeit während des Lebens verbot sich wegen der unvermeidlichen Wunde von selbst. Im Fall 4 spricht das Auftreten des Ödems an beiden Ohren für die erste Art der Erklärung, während im Fall 8 die Entstehung des Ödems allein an dem Ohr, das der Hetolinjektion diente, und der harmlose Verlauf die zweite Erklärung näherliegend erscheinen läfst.

Den günstigen Verlauf in den Fällen 7, 8 und 9 könnte man durch eine Erhöhung der Widerstandskraft infolge der Hetolvorbehandlung erklären, denn in allen drei Fällen übersteigt die verabreichte Keimzahl, wenn auch nicht sehr erheblich, die vom normalen Kaninchen vertragenen Dosen. Bei der geringen Differenz wäre es jedoch unmöglich, aus diesen Ergebnissen einen sicheren Schlufs zu ziehen.

II. Verlauf der subkutanen Milzbrandinfektion nach Vorbehandlung mit Hetol.

Bei den geringen Erfolgen der Hetolvorbehandlung gegen die intravenöse Infektion der Milzbrandkeime waren die Aussichten bei der subkutanen Impfung von vornherein nicht grofs. Trotzdem wurden auch einige derartige Versuche angestellt. Sie führten, wie aus dem im folgenden wiedergegebenen Versuchsprotokollen hervorgeht, zu ganz ähnlichen Resultaten wie sub I.

Über die angewandte Technik ist wenig vorauszuschicken. Die Hetolinjektion wurde nach denselben Regeln vorgenommen wie bei den früher angeführten Versuchen. Auch der Zeitabstand zwischen der Hetolabgabe und der Infektion war der gleiche. In einigen Fällen wurde am zweiten Versuchstage die Hetolinjektion wiederholt, da bei subkutaner Infektion beide Ohren zur Hetolinjektion frei waren. Die Infektion wurde stets in das subkutane Gewebe am Bauch vorgenommen und geschah stets unter aseptischen Kautelen.

Es wurden im ganzen sieben derartige Versuche angestellt, von denen zwei nicht mit aufgenommen wurden, da in beiden Fällen eine Reaktion der Kontrolltiere ausblieb. Es handelte

sich in diesen Fällen um einen Wurf deutscher Kaninchen, die gegen Milzbrand in den angewendeten Dosen nahezu immun zu sein schienen.

Protokolle.

A. Tödlich verlaufene Fälle.

(Die Versuche sind nach der Höhe der Dosen geordnet.)

10. Kaninchen 46. — Gewicht 1400 g.

25. X. 3[15] Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.
6 Uhr: Infektion mit 180 Keimen unter die Bauchhaut.
26. X.: Gewicht 1320 g. Kein Ödem.
6 Uhr abends zweite Hetolinjektion.
27. X.: Gewicht 1220 g. Geringes Ödem an der Injektionsstelle, 12 Uhr mittags exitus.

Sektion: Geringes subkutanes Ödem an der Infektionsstelle, Milz vergröfsert.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

11. Kaninchen 52. — Gewicht 1900 g.

6. XI. 10 Uhr vorm.: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.
12 Uhr mittags: Infektion mit 250 Milzbrandkeimen unter die Bauchhaut.
7. XI.: Gewicht 1720 g. Kein Ödem.
8. XI.: Starkes Ödem an der Infektionsstelle.
10[30] Uhr vormittags exitus.

Sektion: Starkes, subkutanes Ödem an der Infektionsstelle, Milz vergröfsert.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

12. Kaninchen 51. — Gewicht 2550 g.

6. XI. 10 Uhr vorm.: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.
12 Uhr mittags: Infektion mit 375 Keimen unter die Bauchhaut.
7. XI.: Gewicht 2370 g. Geringes Ödem.
8. XI.: Gewicht 2350 g. Geringes Ödem.
9. XI.: Gewicht 2400 g. Starke Vergröfserung des Ödems.
10. XI.: Exitus.

Sektion: Das subkutane Ödem erstreckt sich über den ganzen Bauch bis in die Inguinalgegend. Milz vergröfsert.

Ausstriche: (Herzblut und Milzsaft) Reinkulturen von Milzbrand.

B. Günstig verlaufene Fälle.

13. Kaninchen. 53. — Gewicht 1810 g.
6. XI. 10 Uhr vorm.: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.
12 Uhr mittags: Infektion mit 125 Keimen unter die Bauchhaut.
7. XI.: Gewicht 1650 g. Kein Ödem.
8. XI.: Gewicht 1650 g. Kein Ödem.
9. XI.: Gewicht 1650 g. Kein Ödem.
10. IX.: Gewicht 1740 g. Kein Ödem.

Das Kaninchen bleibt am Leben und zeigt in der Folge keine Krankheitserscheinungen.

14. Kaninchen 45. — Gewicht 1600 g.
25. X. 3 30 Uhr: Injektion von 10 ccm einer 5 proz. Hetollösung in eine Ohrvene.
6 Uhr: Infektion mit 360 Keimen unter die Bauchhaut.
26. X.: Gewicht 1650 g. Kein Ödem.
6 Uhr zweite Hetolinjektion.
27. X.: Gewicht 1620 g. Geringes Ödem am Bauch und an beiden Ohren. Bei den Hetolinjektionen war weden Enge der Venen etwas Hetol in das subkutane Gewebe der Ohren geraten
29. X.: Gewicht 1700 g. Die Ödeme bestehen noch.
30. X.: Gewicht 1720 g. Die Ödeme bestehen noch.
31. X.: Gewicht 1720 g. Die Ödeme sind vollständig resorbiert.
3. XI.: Gewicht 1770 g. Befinden gut.
17. XI.: Gewicht 1000 g. Das Tier zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen.

Es sei auch hier wieder eine kleine Übersichtstabelle beigefügt:

Tabelle II.

Nr. des Versuchs	Zahl der eingebrachten Keime	Ödeme	Gewichtsveränderung in g	Tod an Milzbrand nach	Bemerkungen
13.	125	—	— 70	—	—
10.	180	+	— 180	2 Tagen	—
11.	250	+	— 180	2 »	—
14.	360	vorübergehend	+ 300	—	wahrscheinlich refraktär
12.	375	+	— 150	4 Tagen	—

Nach diesen Ergebnissen am lebenden Tiere war nicht zu erwarten, daſs die anthrakozide Kraft des Blutplasmas in vitro

gegen die Norm gesteigert sei. Es wurde aber, als Probe aufs Exempel ein diesbezüglicher Versuch angestellt, der sich, wie folgt, gestaltete:

Einem Kaninchen wurde die übliche Hetoldosis verabreicht, auf der Höhe der Wirkung Blut aus der Karotis entnommen und auf Plasma verarbeitet. Dabei wurde nach den Angaben von R. Schneider verfahren, und das Blut zu 4‰ mit dem gerinnungshemmenden Natriumzitrat versetzt. Nach sorgfältiger Ausschleuderung aller korpuskulären Elemente wurde 1,0 ccm des völlig klaren Plasmas mit 3000 Milzbrandkeimen beschickt, so dafs also in 0,1 ccm der Aufschwemmung ursprünglich etwa 300 Keime enthalten waren. Dann wurde das Gemisch bei 38° angesetzt und durch das Plattenverfahren sofort, nach 1, 3 und 7 Stunden die Keimzahl ermittelt.

Es ergaben sich folgende Zahlen:

Aussaat von 0,1 ccm der Aufschwemmung:

sofort		320 Keime
nach 1 Stunde		274 »
» 3 Stunden		240 »
» 7 »	>	380 »

(Das Zeichen > erklärt sich daraus, dafs sich nach 7 Stunden eine aus Fibrin und Milzbrandfäden bestehende Flocke gebildet hatte und die Aufschwemmung daher keine gleichmäfsige mehr war.)

Es geht nicht wohl an, die unbedeutende Abnahme der obigen Zahlen auf die Wirkung einer bakteriziden Kraft zurückzuführen, und es dürfte somit auch in vitro der Beweis erbracht sein, dafs während der durch Hetol hervorgerufenen Hyperleukozytose keine anthrakoziden Substanzen in das Plasma abgegeben werden.

In ihren S. 6 zitierten Untersuchungen beobachteten Richter und Spiro nicht nur die Wirkung des Hetols auf die farblosen Blutelemente, sie stellten auch fest, dafs während des Ansteigens der Leukozytenzahl die Blutplättchen im arteriellen wie venösen Blut, in einigen Fällen bis zum völligen Verschwinden, abnahmen und nach Ablauf der Hyperleukozytose wieder in

normaler Zahl auftraten. Diese Angabe erweckte lebhaftes Interesse bei mir, da während meiner Arbeit Gruber und Futaki[1]) den Nachweis erbracht hatten, dafs die die Milzbrandbazillen tötende Substanz im Blutserum aus den Blutplättchen stamme und die unerwartete Einflufslosigkeit der Hyperleukozytose auf den Verlauf der Milzbrandinfektion vielleicht in dem gleichzeitigen Mangel der Blutplättchen im Blute seine Erklärung finden könnte. Nach den Versuchen von Gruber und Futaki sind die in den Kaninchenleukozyten enthaltenen anthrakoziden Stoffe wohl kaum von Bedeutung für die bakterizide Wirkung des Blutes, da sie in das Blutplasma anscheinend niemals abgegeben werden. Die milzbrandfeindliche Substanz des Kaninchenserums stammt anscheinend ausschliefslich aus den Blutplättchen und Gruber und Futaki machten es schon zur Zeit des Abschlusses dieser Untersuchungen zur Wahrscheinlichkeit, dafs diese Stoffe auf den Reiz der Milzbrandinfektion bereits im Tierkörper in das Blutplasma abgegeben werden.

Bei der Herstellung des Hetolplasmas hatte ich Gelegenheit, auf das Verhalten der Blutplättchen zu achten. Wären sie stark vermindert worden oder gar verschwunden, so hätte das von roten und farblosen Blutzellen befreite Plasma höchstens eine schwache oder gar keine Trübung mehr aufweisen dürfen. Es ergab sich jedoch eine ausgesprochene, dichte Trübung nach dem ersten Zentrifugieren, und am Schlufs der zweiten Ausschleuderung fand sich am Boden des Gläschens eine beträchtliche Menge von Blutplättchen, die der bei normalen Plasmen erzielten auf keinen Fall nachstand. Der Befund Richters und Spiros ist also gewifs kein gesetzmäfsiger.

Es ergibt sich, kurz wiederholt und zusammengefafst, aus der vorliegenden Arbeit:

1. dafs eine Steigerung der Resistenz des Kaninchens gegen Milzbrandinfektion durch die künstliche Vermehrung der

1) Münchener med. Wochenschrift, 1907, Nr. 6.

Leukozyten, wenn überhaupt, nur in ganz geringem Mafse möglich ist;
2. dafs das Kaninchenblutplasma auch auf der Höhe der Hetolhyperleukozytose keine bakterizide Kraft besitzt;
3. dafs die Zahl der Blutplättchen auf der Höhe der Hetolhyperleukozytose jedenfalls nicht immer vermindert ist.

Zum Schlufs sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Obermedizinalrat Professor Dr. Max Gruber, für die wertvolle Anregung und das stets entgegengebrachte Wohlwollen bei der Arbeit meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

Bail, Archiv für Hygiene, Bd. 30.
Blumreich und Jacobi, Berliner klin. Wochenschr., 1897.
Buchner, Berliner klin. Wochenschrift, 1890, Nr. 47.
—, Münchener med. Wochenschrift, 1894.
—, Archiv für Hygiene, Bd. X u. XVII.
Charteris und Provan Cathart, Journ. Pathol. u. Bakteriol. 10 (zitiert nach Malys Jahresber. 1904/1905).
Crispino, Giorn. intern. Scienza med., Nr. 21 (zitiert nach Baumgartens Jahresber. 1899).
Ehrlich nnd Lazarus, »Die Anämie«. Spez. Path. u. Therap. Notnagel, Bd. VIII, I. Teil, 1901.
Goldscheider und Jacob, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 25.
Grammatschikoff, Annales de l'institut Pasteur, 1893.
Gruber, Verhandlungen des 14. Kongresses für innere Medizin. Wiesbaden 1896, S. 227.
—, Münchener med. Wochenschrift, 1901.
Gruber und Durham, Wiener klin. Wochenschrift, 1903, S. 1097.
Gruber und Futaki, Zentralblatt f. Bakt., Bd. 38, 1906, Beiheft.
— —, Münchener med. Wochenschrift, 1907, Nr. 6.
Hahn, Kolle-Wassermann IV, 1904.
—, Archiv f. Hygiene, Bd. 25, 26 und 28.
Hankin, Zentralblatt f. Bakteriol., Bd. 12 u. 14.
Havet, La cellule t. X., 1893.
Jacob, Zeitschrift f. klin. Medizin, Bd. 30.
Landerer, Münchener med. Wochenschrift, 1888 und 1889.
—, Deutsche med. Wochenschrift, 1890 und 1893.
—, »Die Behandlung der Tuberkulose mit Zimtsäure«, 1892. F. C. W. Vogel. Leipzig.

Landerer, Vortrag auf dem Tuberkulosekongreſs zu Berlin, 1899.
—, ›Berliner Klinik‹, 1901.
van Leent, Zentralblatt f. Bakteriol., Bd. 28, 1900.
Loewit, Zieglers Beiträge, Bd. 22.
—, ›Physiologie und Pathologie des Blutes etc.‹ 1892. Fischer, Jena.
Loewy und Richter, Deutsche med. Wochenschr., 1895, Nr. 15.
— —, Virchows Archiv, Bd. 151.
Noetzel, Archiv f. klin. Chirurgie, 1897, 1898 und 1900.
Pawlowsky, Zentralbl. f. Bakteriol., 1894. Mitteilungen auf dem XI. internationalen Kongreſs.
Pfeiffer und Marx, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, Bd. 27.
Richter P., Virchows Archiv, Bd. 133, 1893.
Richter und Spiro, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 34.
Schattenfroh, Münchener med. Wochenschrift, 1897.
—, Archiv f. Hygiene, Bd. 31.
Schneider R., Münchener med. Wochenschrift, 1907, Nr. 3.
Schuster K., Inaugural-Dissertation, München 1894.
Spiro, Inaugural-Dissertation, Leipzig 1893.
Vaughan, Bericht vom Kongreſs in Budapest (Zentralbl. f. Bakt., Bd. 16).
Werigo, Annales de l'institut Pasteur, 1891.
Wooldridge, Archiv f. Anatom. u. Physiolog., physiolog. Abteil., Bd. 3.

Über die Ursache der Hauterkrankung bei Anwendung von Dauerbädern.

Von

Privatdozent Dr. **Küster,**
I. Assistenten am Institute.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Freiburg i. Br.
Direktor Geh. Hofrat Prof. Dr. Schottelius.)

(Mit Tafel II, III und IV.)

Seitdem die Dauerbadbehandlung in der Therapie modern eingerichteter psychiatrischer Kliniken einen hervorragenden Platz eingenommen, hat man bei dieser Behandlung unterzogenen Patienten häufig eine eigentümliche Hauterkrankung auftreten sehen, die bis dahin niemals beobachtet war und geradezu als eine Folge des Dauerbades bezeichnet wurde. Das Badeekzem[1]) tritt vorzüglich bei kachektischen Personen, mit Vorliebe bei Paralytikern auf, doch bleiben auch andere Patienten durchaus nicht immer verschont; da bei Frauen die Paralyse selten auftritt, so kommt auf männliche Patienten ein weit höherer Prozentsatz von Badeekzemen. Die Erkrankung pflegt meist aufzutreten, wenn die Patienten etwa 14 Tage im Dauerbad liegen, daneben werden auch Früh- (3—4 Tage) und Spätformen (4 Wochen und mehr) des Auftretens beobachtet; zunächst zeigt sich meist an der Innenfläche der Oberschenkel, an den Genitalien oder wo die Skrotalhaut dem Schenkel anliegt, dann in der Leistenbeuge,

1) Vgl. Jakobi, Eine besondere Form der Trichophytie als Folgeerscheinung des permanenten Bades. Arch. f. Dermat. u. Syph., 84. 3.

aufserdem aber frühzeitig auch in der Umgebung der Achselhöhle und am Oberarm eine diffuse dunkle Rötung.

Nimmt man die Patienten aus dem Bade, so erkennt man (nachdem die Haut etwas abgetrocknet ist) bei genauem Zusehen, dafs die Rötung durch massenhaftes Auftreten von kleinsten, roten Papeln hervorgerufen wird. Die anfangs disseminiert stehenden Papeln nehmen rasch nach der Fläche zu, werden flach beetartig und konfluieren; die erkrankten Hautpartien sehen jetzt mehr blafs aus, die intensive Rötung verschwindet, weil sich auf der Oberfläche ein schmieriger Belag von aufgeweichten, abgestofsenen Epithelien ansammelt. Bleiben die Patienten dauernd im Bade, so schreitet die Erkrankung unaufhaltsam fort und schliefslich sind alle vom Wasser bedeckten Körperoberflächen erkrankt; Haare und Nägel bleiben gesund. Meist ist dann auch der dekrepide Zustand (vielleicht durch die schweren Hautveränderungen gefördert) soweit vorgeschritten, dafs der Exitus letalis eintritt.

Gestattet es der Allgemeinzustand des Patienten, diesen bei Beginn der oben besprochenen gut charakterisierten Hautveränderungen (die ausführliche Beschreibung siehe bei Jakobi a. a. O.) aus dem Bade zu nehmen, so heilt die Veränderung meist in kurzer Zeit glatt ab: die geröteten erkrankten Hautpartien blassen ab, die Haut schält sich und unter den Schälschuppen erscheint wieder gesunde Haut. Die Abheilung der Anfangsstadien der Hauterkrankung bei Unterbrechung der Badebehandlung erfolgt ohne therapeutisches Zutun in wenigen Tagen, während im Bade selbst bis jetzt jede therapeutische Mafsnahme vergeblich gewesen ist.

Ist die Erkrankung im Bade schon weiter vorgeschritten, sind schon gröfsere Hautpartien verändert, so läfst sich durch Entfernung aus dem Bade der Erkrankung kein Einhalt mehr gebieten, denn jetzt verursacht das Abtrocknen der grofsen Hautherde starke Spannungen; es entstehen trotz therapeutischer Gegenmafsregeln (Einfetten etc.) blutende Schrunden und Risse, und die Patienten werden durch starke Schmerzen so gequält, dafs man sich genötigt sieht, dieselben wieder ins Dauerbad zu

legen; die Hauterkrankung beginnt natürlich dadurch von neuem. Hierzu kommt noch, dafs viele der Patienten ursprünglich wegen Dekubitus in das Dauerbad gegeben werden, hier heilt nun der Dekubitus sehr gut ab, aber wenn solche Patienten nun an Badeekzem erkranken und jetzt der Versuch gemacht wird, dieses durch Bettbehandlung zur Abheilung zu bringen, so tritt meist der Dekubitus mit besonderer Heftigkeit wieder auf.

Bei diesem Circulus vitiosus ist es kein Wunder, dafs das Badeekzem von Psychiatern geradezu als eine Crux medicinae empfunden wird, und es verlohnte sich daher wohl der Mühe, diese Krankheit eingehend zu studieren.

Durch das liebenswürdige Entgegenkommen des Vorstandes der hiesigen Psychiatrischen Universitätsklinik, Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. Hoche, der mir das Krankenmaterial seiner Klinik zur Verfügung stellte, war ich in der Lage, mich im Laufe des letzten Jahres eingehend mit der Erforschung des Badeekzems zu befassen. Da gleichzeitig der Vorstand der Universitäts-Hautklinik, Herr Prof. Dr. Jakobi, das Badeekzem vom Standpunkte des Dermatologen studierte, so erhielt ich bei meinen Untersuchungen eine Reihe von fördernden sachgemäfsen Anregungen, für die ich Herrn Prof. Jakobi auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausdrücke.

Meine Untersuchungen begannen damit, dafs ich mit sterilem Skalpell die schmierigen Epithellagen, die sich auf den erkrankten Hautpartien des Patienten vorfanden, abschabte und mikroskopisch untersuchte.

Im einfachen Quetschpräparat erkannte man zunächst massenhaft abgestofsene Hautzellen und Reste derselben von sehr verschiedenartiger Form, bald mit, bald ohne Kern; dazwischen wohlerhaltene polynukleäre Leukozyten. Die Betrachtung mit Ölimmersion machte grofse Massen von Mikroorganismen sichtbar, Bazillen- und Kokkenformen. Am auffallendsten aber war das Vorhandensein von Mycelfäden sowie runder bis ovaler Zellformen, welche deutlich Kerne enthielten. Setzte man dem Präparat Kalilauge zu, so traten die beiden letztgenannten Gebilde besonders deutlich hervor, während Spaltpilze und Körperzellen sich

aufhellten. Auf Fig. 1 ist ein solches Präparat bei 600facher Vergröfserung abgebildet. Man sieht hier Mycelfäden von etwa 4 μ Dicke, welche sich oft durch das ganze Gesichtsfeld hinziehen, dieselben sind in verschieden grofsen Abständen von deutlichen Querwänden durchzogen und zeigen in ihrem Innern hellglänzende Pünktchen sowie Vakuolen und kernartige Bildungen. Die Querwände rücken nach der Spitze des Fadens meist enger zusammen, und vielfach endet der Faden mit einer hefenzellenartigen Anschwellung; neben diesen Mycelfäden, an denen man zuweilen im frischen Präparate auch seitliche Abschnürungen findet, sieht man im Bilde auch Häufchen von Zellen, die kernhaltig, bald rund, bald in die Länge gestreckt erscheinen und grofse Ähnlichkeit mit Hefezellen haben. Ein Zusammenhang der Fäden und Zellhäufchen liefs sich in frischen Präparaten nicht konstatieren und erschien auch zunächst unwahrscheinlich.

Aus Analogieschlüssen mit ähnlichen Hauterkrankungen, den Trichophytien (Makrosporien) mufste man annehmen, dafs in den Mycelfäden der Erreger des Badeekzems zu erblicken sei, und es galt daher, diese Fäden in Kultur zu gewinnen.

Abgeschabtes Hautmaterial, das mikroskopisch viele Fäden zeigte, wurde in sterilem Porzellanmörser, teils direkt, teils unter Zusatz von steriler Kieselgur verschieden fein zerrieben und davon eine grofse Anzahl von Platten gegossen. Mit Rücksicht auf die zahlreichen Begleitbakterien wurden starke Verdünnungen angelegt. Als Nährbodenmaterial wurde Gelatine, Glyzerin-Agar, glyzerinfreier Pepton-Agar, Aszites-Agar, erstarrtes Glyzerin-Pferdeblutserum und Maltose-Agar nach Sabernaud (Milieu d'épreuve) verwandt. Die besäten Platten wurden teils bei Zimmertemperatur (18—25° C), teils bei 37° im Brutschrank gehalten, aufserdem einige Platten in sauerstofffreie Atmosphäre gebracht. Auf fast allen Kulturen wuchsen reichlich Kolonien, Spaltpilze von verschiedenen Formen, daneben auch weifse und schwarzbraun wachsende Hefen: das Bild der Wasserflora eines stark verunreinigten Wassers, aber nirgends fand ich eine Kolonie, die in ihrem mikroskopischen Bilde Mycelfäden erkennen liefs.

Die Versuche wurden mit Material von verschiedenen Patienten wiederholt: dasselbe Bild. Da auf Milieu d'épreuve besonders mannigfache Kolonien wuchsen, wurde von diesem Nährboden eine Serie in der Weise angelegt, dafs von Platte zu Platte die Reaktion von stark sauer bis zu stark alkalisch abgestuft wurde; ich dachte, auf diese Weise vielleicht eine Reaktion zu finden, bei welcher der Mycelbildner besonders gut wüchse, während die anderen Keime gehemmt würden; der Erfolg blieb aus.

Jetzt versuchte ich, durch Tierversuche den Keim zu übertragen, um ihn vielleicht hier rein zu gewinnen. Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäuse wurden mit frischem Material auf die rasierte, unverletzte oder vorher skarifizierte Haut energisch eingerieben: alle blieben gesund, Einimpfung mit der Spritze wurde je nach der Menge des eingebrachten Materials bald symptomlos vertragen, bald kam es zur Abszedierung, oder das Tier ging an Sepsis zugrunde, niemals erhielt ich spezifische Veränderungen.

Da in den Dauerbädern der Erreger offenbar deswegen haftete, weil hier an der aufgeweichten und macerierten Haut der dekrepiden Individuen ganz besondere Wachstumsbedingungen gegeben waren, so suchte ich diese Verhältnisse im Tierversuch in folgender Weise nachzuahmen: weifse Mäuse wurden in weite Gläser gesetzt, deren Boden etwa $1^1/_2$ cm hoch mit Wasser bedeckt war. In diesem Wasser wurde reichlich abgeschabtes Hautmaterial aufgeschwemmt, das Futter (Milchbrot) wurde auf kleinen, schwimmenden Holzklötzchen gereicht, die ganzen Gläser bei Bruttemperatur gehalten: die Tiere nahmen schlecht Futter auf und gingen in 3—4 Tagen stark abgemagert zugrunde, ohne dafs eine Hautveränderung zu finden war.

Ich befestigte dann Ratten durch Drahtnetze auf Holzbrettchen, zog ihren Schwanz durch ein Loch des Brettchens nach unten durch und liefs das ganze Brett auf infiziertem Wasser schwimmen. Diese Tiere blieben am Leben, aber vergeblich untersuchte ich den eingetauchten Schwanz auf haftende Mycelfäden.

Nachdem ich dann noch einige Methoden, welche die Botaniker zur Reinzüchtung von Mycelien zu verwenden pflegen, ohne Erfolg versuchte, glaubte ich schon alle Mühe vergebens und neigte zu der Ansicht, dafs wir es hier mit einem jener Erreger von Hautkrankheiten zu tun hätten, die wir mit unseren gegenwärtigen Hilfsmitteln nicht züchten können.

Nur schwer liefs ich mich von Herrn Prof. Jakobi dazu bewegen, nochmals die Züchtung zu versuchen. Von der Ansicht ausgehend, dafs nur eine möglichst weitgehende Anpassung an die natürlichen Verhältnisse hier zum Ziele führen könnte, legte ich nunmehr alle Kulturen bei Badetemperatur (37°) und dazu unter Wasser an. Dabei erwiesen sich die Begleitbakterien als sehr störend, denn dieselben vermehrten sich in dem über den Nährböden aufgeschichteten sterilen Wasser, welches natürlich aus den Nährmedien reichlich Nahrungsstoffe löste, derartig, dafs in kurzer Zeit die ganzen Kulturen in starker Fäulnis waren. Dieser Umstand veranlafste mich, Desinfizientien in steigenden Dosen den Kulturgefäfsen zuzusetzen, vielleicht, dafs die Spaltpilze von einem derselben stärker beeinflufst würden als die Mycelien und dadurch eine Reinzucht gelänge. Diese Erwartung erfüllte sich. Durch tropfenweises Zusetzen verdünnter Formalinlösung zu Nährmedien, welche aus fest erstarrtem Glyzerin-Pferdeblutserum mit aufgeschichtetem, sterilem Wasser bestanden, gelang es, eine Kombination zu finden, bei der nur noch die Mycelien überlebten und sich, wenn auch erst langsam, im Verlauf von 2—3 Wochen vermehrten. Es bildeten sich im Wasser weifsgraue Flocken, die an Gröfse deutlich zunahmen, während jede Bakterienvermehrung ausblieb. Die mikroskopische Untersuchung zeigte reichlich Mycelfäden und daneben hefeähnliche Zellen, die morphologisch den im Quetschpräparat gesehenen Gebilden vollständig identisch waren. (Fig. 2.) Das Kulturverfahren wurde an drei verschiedenen Fällen von Badeekzem wiederholt und eine Reihe von Kontrollen angelegt; ich hatte stets das gleiche Resultat.

Zunächst glaubte ich eine Mischkultur zweier Mikroorganismen vor mir zu haben, von denen die eine ein Mycelbildner wäre,

während die andere zu den Hefearten zu rechnen wäre. Kulturen auf festen Nährmedien ergaben jedoch eine andere Erklärung.

Ich legte nach der von Hansen zur Reinzüchtung von Hefen angegebenen Methode Einzellenkulturen an, indem ich Kulturmaterial aus den Formalinwasserkolben in viel flüssiger Gelatine aufschwemmte und diese Verdünnung auf quadrierten, grofsen Deckgläsern (6 : 6 cm) mit dem Platinpinsel dünn ausstrich. Man erhielt so in dem erstarrten Nährmaterial fixierte einzelliegende Keime, deren Lage an der Deckglaseinteilung leicht notiert werden und deren Wachstum unter dem Mikroskop von Tag zu Tag gut verfolgt werden konnte. Die Deckgläser wurden mit der Materialseite nach unten auf Glasringe aufgelegt und in feuchten Kammern bei 25° aufbewahrt.

Man konnte nun direkt beobachten, wie beide Wuchsformen: Mycelfäden und hefeartige Zellen ineinander übergingen. Beobachtete man eine einzelliegende hefeartige Zelle, so sah man zunächst, dafs die Zelle in die Länge wuchs und sich dann durch eine in der Mitte gebildete Querwand in zwei Individuen abschnürte: also keine Knospung-, bzw. Tochterzellenbildung wie bei den echten Hefen, sondern Teilung, wie wir sie bei den höheren Pilzen (Askomyceten) zu sehen gewohnt sind. Durch fortgesetzte Teilung der neugebildeten Zellen entstanden grofse Kolonien, die bei 60facher Vergröfserung mit ihrem granulierten Aussehen durchaus an Hefekulturen erinnerten.

Bei starker Vergröfserung und besonders dann, wenn man die sicher aus einer Zelle hervorgegangene Kolonie mit physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmte und im hängenden Tropfen betrachtete, sah man jedoch, dafs einzelne Individuen einen abweichenden Wachstumstypus zeigten. Bei diesen war nämlich bei starkem Längenwachstum die Querteilung unterblieben, so dafs kleine Schläuche entstanden. Da an diesen kurzen Fäden das eine Ende meist deutlich verdickt war und noch gut die Form der Ausgangszelle erkennen liefs, so schlofs ich hieraus, dafs nach einer Seite ein Wachstum der Mutterzelle erfolgt war, zumal häufig der Faden nach dem freien Ende zu sichtbar an Kaliber abnahm. Wir hatten es hier also sicher

mit beginnender echter Mycelfadenbildung zu tun. Diese Erscheinung wurde noch deutlicher, wenn man die Reinkulturen auf glyzerinfreien Peptonagar übertrug. Hier bildeten sich zunächst runde, weifse, leicht abstreichbare, granulierte Kolonien; von diesen wuchsen nach 4—5 Tagen lange Mycelfäden hervor, wie dies Fig. 3 veranschaulicht. Die Fäden zeigen eine gut hervortretende Zellwand und im Inneren granuliertes Protoplasma mit einzelnen starklichtbrechenden Körnchen, Vakuolen und Kernen. Die Fäden sind durch Querwände septiert, welche nach der Wachstumsspitze zu enger zusammenliegen.

Sowohl von der Spitze des Fadens als auch von den Stellen, wo Querwände vorhanden sind, schnüren sich nun die obenerwähnten hefeartigen Gebilde ab, die sich rasch vermehren und so zur Bildung von neuen Wachstumszentren den Ausgangspunkt geben. Von diesen werden dann wieder Fäden vorgeschoben und der Wachstumszyklus beginnt von neuem.

Auf Grund der beobachteten oben beschriebenen Vermehrung des Pilzes haben wir in dem aus dem Badeekzem gezüchteten Mikroorganismus einen Vertreter der Askomyten zu erblicken: die von dem Mycel abgeschnürten hefeartigen Zellen sind typische Athrosporen oder Konidien. Eine genaue botanische Klassifizierung ist solange unmöglich, als es nicht gelingt, den Pilz zur Fruktifikation zu bringen.

Die ursprüngliche Annahme einer Hefeart wurde auch durch folgende Untersuchung als irrig erwiesen.

Der Pilz zeigte kein für Heferassen charakteristisches Wachstumsoptimum, und bildete auf keiner Nährsubstanz, auch nicht auf Gipsblockkulturen echte Endospòren. Den verschiedenen Zuckerarten gegenüber hatte er ein indifferentes Verhalten. In schwach alkalischen Neutralrotgärröhrchen, denen Traubenzucker, Milchzucker, Lävulose, Maltose, Inulin, Rohrzucker oder Mannit zugesetzt war, fand zwar Wachstum des Keimes statt, es wurde aber weder Gas gebildet, noch auch das Neutralrot verändert.

Der Erreger ist in Reinkultur auf alle gebräuchlichen Nährböden überimpfbar, allerdings stöfst die Übertragung aus der Formalinwasserkultur auf feste Nährböden anfangs häufig auf

Schwierigkeiten, und die Kultur gelingt erst bei wiederholtem Versuch.

Das charakteristische Wachstum auf einigen Nährböden ist aus Fig. 4 ersichtlich.

Quadrant *a* ist eine Kultur auf glyzerinfreiem Agar. Hier ist nach etwa 10 Tagen schon mit unbewaffnetem Auge das Auswachsen der Myzelfäden aus den Kolonien wohl zu erkennen. Das Zentrum der Kolonie erscheint gelbweifs mit fein granulierter Oberfläche.

Quadrant *b* zeigt eine gleichalte Kultur des Erregers auf Glyzerin-Agar. Das Wachstum ist hier im allgemeinen weit üppiger, es kommt zu lebhafter Konidienbildung, während längere Mycelfäden nur ausnahmsweise gebildet werden, eine Erfahrung, die man auch bei üppigem Wachstum anderer Askomyzeten zu machen pflegt. Die Oberfläche der Kolonie hat ein eigenartiges, ringwallartiges Aussehen und nimmt einen bräunlichen Farbenton an.

In Quadrant *c* ist eine 4 Wochen alte Bierwürzgelatinekultur abgebildet. Hier sind reichlich Mycelfäden gebildet; diese wachsen zum Teil frei über die Oberfläche hervor und diese nimmt dadurch ein schönes, samtartiges, gestreiftes Aussehen an.

Der letzte Quadrant gibt das Bild einer 14tägigen Kartoffelkultur wieder. Das Wachstum erinnert sehr an das auf Bierwürzgelatine, ist aber dadurch besonders unterschieden, dafs das samtartige Aussehen viel später und nur in Randpartien auftritt. Die Abbildung ist deshalb gewählt, weil in der Kartoffelkultur besonders merkwürdige Wuchsformen (Degenerationsformen?) auftreten, die weiter unten beschrieben und in Fig. 5 dargestellt sind.

Die Kulturen auf den übrigen Nährböden bieten wenig Charakteristisches. Bouillon zeigt einen dicken flockigen Bodensatz, die Reaktion wird in 6 Wochen nicht deutlich verändert. Milch wird nicht koaguliert. Zusatz von Bierwürze zu einem Nährboden unterstützt das Wachstum. Anaerob findet keine Vermehrung statt, doch bleibt der Erreger unter anaeroben Verhältnissen lange am Leben.

Der Erreger läfst sich im Reinkulturausstrich zwar mit allen Anilinfarben darstellen, der feinere Bau tritt jedoch bei den einzelnen Färbmethoden sehr verschieden zum Vorschein.

Nach Gram färben sich alle Wuchsformen homogen, die schönsten und instruktivsten Bilder erhält man bei der Färbung nach Giemsa, Romanowski, Leishmann sowie nach der Neisserschen Körnchenfärbung für Diphtheriebazillen.

Bei diesen Methoden wird folgendes sichtbar: Die Konidien bestehen aus einer deutlich differenzierten äufseren Membran, die ein granuliertes Protoplasma einschliefst, dessen Granula sich braunrot bis eosinrot färben. Im Protoplasma sieht man einen bis mehrere Kerne. Bei den Mycelfäden ist nur die äufsere Hülle gut gefärbt, während das Protoplasma verschieden grofse Hohlräume aufweist. Es macht den Eindruck, als ob in den älteren Partien der Fäden das Protoplasma in der Mitte verschwindet und nur in einer schmalen, der Zellwand anliegenden Schicht bestehen bleibt; auch die in den Fäden vorhandenen Kerngebilde rücken in die Randpartien des Mycels.

Der Erreger zeigt schon auf den üblichen Agar-Nährböden in wenigen Tagen einen ausgedehnten Pleomorphismus, aber am deutlichsten tritt dieser hervor, wenn man einen Ausstrich von einer etwa 10 Tage bei 37° gewachsenen Glyzerinkartoffelkultur nach Leishmann untersucht. Fig. 5: Hier sind die Mycelfäden, auch bei vorsichtiger Präparation, meist nur in kurzen Fragmenten vorhanden. Die Konidien zeigen ganz verschiedene Gröfse und Form, während die kleineren der frisch abgeschnürten Athrosporen der Agarkulturen analog sich verhalten, haben die gröfseren Formen ihre scharfe Zellmembran verloren, der Kern ist vielfach mehrlappig geworden, so dafs ihr ganzes Aussehen unwillkürlich an farblose Blutzellen der Warmblüter erinnert. Gerade dieses Verhalten älterer Konidienformen macht das Erkennen derselben im Gewebsschnitt aufserordentlich schwierig und häufig unmöglich.

Der beschriebene Askomycet ist der Erreger der Trichophytien kachektischer Individuen in Dauerbädern, denn er wurde bis jetzt in allen untersuchten Fällen aus den erkrankten Haut-

partien in Reinkultur gezüchtet; er findet sich in der kranken Epidermis regelmäfsig in solchen Mengen, dafs die Schwere des Krankheitsbildes hinreichend erklärt ist. Die Forderung, dafs der Keim, welcher für eine bestimmte Krankheitsform verantwortlich gemacht wird, sich sonst nicht als Saprophyt vorfinden soll, darf bei einem Askomyzeten, der sich nur unter ganz besonderen Umständen (kachektisches Individuum mit durch Dauerbad macerierter Haut) ansiedelt, nicht gestellt werden. Ich glaube, den Erreger, und zwar die Konidienform desselben in Formalinkultur aus frischem Badewasser gesehen zu haben, ätiologisch wäre dieses Vorkommen ja auch sehr wahrscheinlich, aber eine Anreicherung gelang nicht, so dafs ich mir in dieser Beziehung noch kein endgültiges Urteil erlauben darf. Eine Überimpfung frischen Materials auf kräftige Individuen in und aufserhalb des Dauerbades verlief (nach Jakobi), wie übrigens aus oben Gesagtem von Anfang an zu erwarten war, resultatlos.

Ein wichtiges Glied in der Beweiskette für die pathogene Bedeutung des gefundenen Mikroorganismus bildet der Befund im Gewebsschnitt. In den oberflächlichsten Schichten der Epidermis findet man natürlich alle die Keime, welche auf den verschiedenen festen Nährböden zum Wachstum gelangten und das Angehen des Askomyzeten wahrscheinlich verhinderten; in den tieferen Schichten der Erkrankungsherde, in den stärkst veränderten Hautpartien findet man jedoch lediglich den Askomyzeten. Derselbe kommt hier, Fig. 6, in seinen beiden charakteristischen Formen: Mycelfäden und Athrosporen vor. Die Darstellung im gefärbten Schnitt ist aufserordentlich schwierig und gelingt bei Anwendung derselben Methode bei dem einen Schnitt, während sie bei vielen anderen mifslingt. Diese Schwierigkeit wird dadurch bedingt, dafs der Erreger im Schnitt nur verhältnismäfsig schwer Farbe annimmt, man mufs deshalb stark überfärben und durch nachheriges Differenzieren den Zeitpunkt abpassen, bei dem die Hautzellen ihre Farbe schon möglichst abgegeben haben, während der Pilz noch gefärbt bleibt. Da nun das Festhalten der Farbe in dem Erreger nur wenig gröfser ist als das in den Körperzellen, so ist man bei der Gewinnung guter

Präparate sehr vom Zufall abhängig. Dazu kommt noch, dafs die Konidienform des Erregers, wie schon bei Fig. 2 erwähnt, häufig wie eine Körperzelle aussieht, so dafs man bei Beurteilung des histologischen Bildes sehr vorsichtig sein mufs.

Ich möchte die ausführliche Besprechung der pathologisch-histologischen Veränderungen erst in dem zweiten Teil meiner Abhandlung vornehmen und hier nur einen allgemeinen Überblick über dieselben geben.

Man sieht in den obersten Hautschichten, dem Stratum corneum kleine Erkrankungsherde, in denen sich verschiedenartige Zellformen sowie deutliche Mycelfäden vorfinden. An vereinzelten Stellen sieht man, wie die Mycelien in den Haarbälgen oder Drüsengängen liegen, ohne dafs es hier jedoch zu stärkeren Zellreaktionen käme. Die tieferen Hautpartien erscheinen bis auf eine Erweiterung der Hautkapillaren im wesentlichen normal, Plasmazellen dürften etwas vermehrt vorkommen, auch sieht man an verschiedenen Stellen Leukozyten, die auf der Wanderung von den Kapillaren zu den Krankheitsherden begriffen sind. An einer Stelle gewahrte ich auch einen breiten Durchbruch von Wanderzellen von einem Blutgefäfs durch das Stratum malpighii zu dem darüberliegenden Infektionsherd.

In Fig. 6 ist eine der meist vorgefundenen Erkrankungsherde mit Mycelfäden dargestellt. Konidienformen des Erregers und Körperzellen lassen sich bei der angewandten Färbung[1]) hier mit Sicherheit nicht unterscheiden, ich werde später noch ausführlich darauf zurückkommen. Daneben findet man in demselben Schnitt auch kleine Herde, in denen der Erreger nicht zu erkennen ist. Anderweitige Mikroorganismen kommen in den eigentlichen Erkrankungsherden nicht vor, finden sich aber reichlich in den obersten, in starker Abschuppung begriffenen Partien der Epidermis.

Die Identität des im Schnitte sichtbaren Erregers mit dem gezüchteten Askomyzeten ist nach meiner Ansicht zweifellos.

1) 5 Min. Anilinmethylviolett, differenzieren mit Anilinxylol, kurz Eosin Alkoh. absolut, Abtrocknen mit Fliefspapier, Xylol, Kanadabalsam.

Zwar war ich bis jetzt nicht imstande, Hautveränderung mit demselben zu erzeugen, aber bei der Einspritzung von Reinkultur in den tierischen Organismus entwickelt der Pilz echt pathogene Eigenschaften, die auch unter Umständen den Tod des Tieres bedingen. Ich experimentierte bis jetzt an Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen; die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen und werden in dem zweiten Teil ausführlich mitgeteilt werden.

Zurzeit werden auch Untersuchungen darüber angestellt, welche Desinfizientien besonders stark das Wachstum des Pilzes hemmen, vielleicht dafs es auf diese Weise gelingt, ein Heilmittel gegen das Badeekzem zu gewinnen, nachdem dasselbe, wie Jakobi mitteilt, bis jetzt allen therapeutischen Mafsnahmen getrotzt hat.

Wenn ich am Schlusse des bakteriologischen Teiles meine Untersuchung noch einmal kurz zusammenfasse, so hat sich folgendes ergeben:

1. Die bei Dauerbadebehandlung auftretende Trichophytie wird durch einen Pilz bedingt, welcher zur Gruppe der Askomyzeten gerechnet werden mufs.
2. Die Reinzüchtung des Pilzes gelingt in Formalinwasserkulturen.
3. Der Pilz hat pathogene Eigenschaften besonders für Kaninchen, aber auch für Meerschweinchen, Ratten, Mäuse und Frösche.

Freiburg, 17. April 1907.

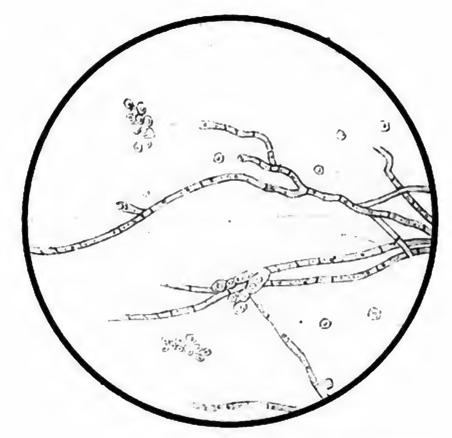


Fig. 1
Frisches Quetschpräparat von abgeschabten Epidermisschuppen (mit verdünnter KOH).



Fig. 2
Kultur des Erregers unter Formalinwasser

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.



Fig. 3.
Randpartie einer Kultur des Erregers auf glyzerinfreiem Agar.
(200 fach.)

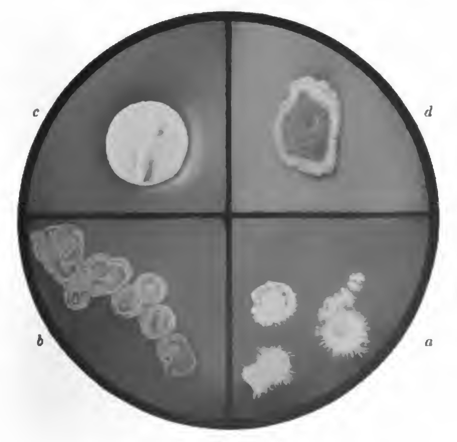


Fig. 4.
Reinkulturen auf verschiedenen Nährmedien.

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.



Fig. 5.
Ausstrich einer 14 tägigen Kartoffelkultur.
(600 fach.)



Fig. 6.
Schnitt durch einen Erkrankungsherd der Haut.
(600 fach.)

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.



ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. M. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

DREIUNDSECHZIGSTER BAND.

Mit 6 Abbildungen.



MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1907.

ARCHIV FÜR H

Inhalt.

Über Bleivergiftungen und ihre Erkennung.

Von

Dr. P. Schmidt,

I. Assistenten am hygienischen Institut zu Leipzig.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Leipzig.)

Es ist als eine Tatsache anzusehen, dafs die Zahl der Bleivergiftungen in den gewerblichen Betrieben im Rückgang begriffen ist, dank der unablässigen Fürsorge unserer Regierungen für die dort beschäftigten Arbeiter. Diese Abnahme der Bleierkrankungen seit Inkrafttreten des Bleigesetzes ist in allen Statistiken so unzweideutig übereinstimmend, dafs man sie nicht gut als eine rein zufällige Schwankung auffassen kann. — Gleichwohl ist die Zahl der Bleikranken, die ärztliche Hilfe in Anspruch nimmt und das Unglück, das über manche Arbeiterfamilien durch länger dauernde Erwerbsunfähigkeit ihrer Ernährer infolge Bleivergiftung hereinbricht, leider noch immer viel zu grofs.

Es ist deshalb erfreulich zu sehen, wie das Interesse nicht allein unserer Regierungen, sondern auch der Arbeiter selbst für die Bekämpfung der Bleigefahr im Wachsen begriffen ist.

Da es nicht möglich sein wird, das Blei gänzlich aus den Gewerben zu verdrängen, und da sich die zweifellos vorhandene grofse Empfindlichkeit einzelner Individuen gegenüber dem Gift nicht beseitigen läfst, wird die Hauptaufgabe der die Bleiarbeiter überwachenden Ärzte nunmehr die bleiben, die Krankheit in einem so frühen Stadium zu erkennen, dafs schwerere Formen womöglich ganz verhütet werden. Und gerade in der Früh-

diagnose der Bleivergiftung lag bisher die grofse Schwierigkeit bei der Verhütung der schweren Fälle.

Es ist überflüssig, hier diese Schwierigkeiten bei der Diagnostik, besonders der rheumatischen und nervösen Formen, näher zu erörtern. Selbst der für die Vergiftung charakteristische Bleisaum läfst oft genug im Stich, da er bei guter Zahnpflege fehlen kann. Inwieweit er für eine Frühdiagnose in Betracht kommt, wäre erst noch durch ein grofses Krankenmaterial festzustellen.

Um so bedeutungsvoller erscheint eine Beobachtung, auf die besonders E. Grawitz[1]) und seine Mitarbeiter aufmerksam gemacht haben. Sie fanden nämlich in allen Fällen klinisch sicherer Bleiintoxikation regelmäfsig in den mit Methylenblau gefärbten Blutausstrichen eine Veränderung der roten Blutkörperchen, welche sonst nur noch bei einigen besonders genannten Krankheiten (Malaria, perniziöse Anämie, Darmfäulnis, Sepsis, Krebs-Kachexie) in gröfserer Zahl vorkommen sollen: die Einlagerung verschieden zahlreicher gröfserer oder kleinerer Körner, welche sich mit den basischen Farbstoffen besonders leicht darstellen lassen (Ehrlichs basophile Körnelung).

Die Grawitzschen Befunde sind bereits von mehreren Seiten bestätigt worden.[2])

Sabrazès und Grawitz haben diese basophil gekörnten roten Blutkörperchen auch experimentell an Tieren durch Verfütterung oder Einspritzung von Bleisalzen erzeugen können.

---

1) E. Grawitz, Über körn. Degeneration der roten Blutkörperchen. Deutsche med. Wochenschrift, 1899, Nr. 44.

Derselbe, Die klin. Bedeutung u. experim. Erzeugung körn. Degeneration in den roten Blutkörperchen. Berlin. klin. Wochenschr., 1900, Nr. 9.

Hamel, Über die Beziehungen der körn. Degeneration der roten Blutkörperchen zu den sonstigen morph. Veränderungen des Blutes mit besonderer Berücksichtigung der Bleiintoxikation. Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 67, 1900.

2) O. Moritz, Ergebnisse von Bleiuntersuchungen. St. Petersburger med. Wochenschr., 1903, Nr. 50.

Büsing, Blutuntersuchungen bei Bleiarbeitern. Diss. Rostock, 1904.

Frey, Beitrag zur Frühdiagnose von chron. Bleivergiftung. Deutsche med. Wochenschr., 1907, Nr. 6.

Es wurden jedoch bei allen bisherigen Versuchen nur grofse Dosen verwendet, um das Auftreten der gekörnten Elemente überhaupt zu erweisen. Mir kam es darauf an, einmal Tierversuche mit Dosen auszuführen, wie sie etwa in den Bleigewerben für die Arbeiter in Frage kommen dürften.

Zu dem Zwecke wurde eine Reihe von Tierversuchen mit Verfütterung und Einspritzung abgestufter Mengen Bleis vorgenommen, einmal um festzustellen, ob basophil gekörnte rote Blutkörperchen nach Verabreichung von Blei wirklich erzeugt werden, sodann, um womöglich einen Anhaltspunkt dafür zu erlangen, von welcher Menge an das Blei die ersten Veränderungen im Körper hervorruft! Diese scheinen nach den bisherigen Beobachtungen immer am Blute ihren Anfang zu nehmen.

Schliefslich wurden nebenher einige quantitative Bleibestimmungen im Waschwasser, Mundspülwasser und Urin von Bleiarbeitern, und ferner Studien über die Genese der basophilen Körner vorgenommen.

Untersuchungsmethode.

Zur Herstellung der Präparate wurde teils Azurblau (Giemsas Azur II), teils verdünnte Manson-Lösung verwendet. Es ist nach unseren Erfahrungen unbedingt nötig, dünne im Reagensglase soeben noch durchscheinende Farblösung zu verwenden: die basophilen Körner färben sich mit solcher selbst bei kurzer Dauer (8—10 Sekunden) schon ganz intensiv blau und heben sich auf den blafsgrün bleibenden roten Blutscheiben weit besser ab, als wenn ihr Untergrund selbst dunkelblau tingiert ist. Es hat sich bei unseren Untersuchungen die haltbare neutrale Lösung von Azur II Giemsa (Grübler, Leipzig) 50 mg auf 100 Wasser ganz vorzüglich bewährt. Die Färbung der Körner ist dabei eine äufserst intensive.

Um einen ungefähren Mafsstab über die im Blute vorhandenen basophil gekörnten roten Elemente zu gewinnen, habe ich in jedem Falle eine gröfsere Anzahl Gesichtsfelder (mindestens 200) eines gut gelungenen Ausstrichs mit durchschnittlich etwa 200

roten Blutkörperchen im Gesichtsfeld (Leitz $^{1}/_{12}$ Öl-Immmersion, Okular 1) auf die vorhandenen basophil gekörnten roten Blutscheiben abgesucht und das Resultat der Zählung auf eine Million berechnet. Gleichzeitig fanden auch die metachromatischen roten Blutkörperchen Berücksichtigung. — Diese ungefähre Bestimmung ihrer Menge erwies sich in der Folge als aufserordentlich wichtig, da sich herausstellte, dafs die basophil gekörnten roten Blutkörperchen selbst im Blute anscheinend gesunder Menschen vorkommen und erst recht bei anämischen Zuständen irgendwelchen Ursprungs, so dafs ihr Vorkommen erst von einer bestimmten Menge an diagnostischen Wert bekommt.

Beim Absuchen der Präparate leistete der Leitzsche bewegliche Objekttisch grofse Dienste. Doppeltzählung wurde so mit Sicherheit vermieden.

Bemerken möchte ich, dafs ich bei Kontrollzählungen, falls mindestens 200 Gesichtsfelder ausgezählt wurden, immer gut übereinstimmende Resultate erzielt habe.

Es versteht sich von selbst, dafs die gefundenen Zahlen keine mathematisch genau der Wirklichkeit entsprechende Werte darstellen, da sich mancherlei Fehler nicht allein bei der Auszählung, sondern auch bei der Darstellung einschleichen können; es genügt aber für die Praxis, dafs sie doch einen orientierenden Mafsstab bieten. In zweifelhaften Fällen wird man sich ohnehin nicht mit einer einzigen Untersuchung begnügen.

Tierversuche.

Es soll hier zunächst über die Tierversuche berichtet werden, bei welchen das Blei als Bleinitrat teils verfüttert teils subkutan injiziert wurde. Die angegebenen Mengen beziehen sich immer auf metallisches Blei.

Die Untersuchungen des Blutes der Tiere wurden alle 14 Tage vorgenommen.

Von vier Kaninchen (K I—IV) erhielten zwei täglich 0,25 mg Blei auf das Kilo subkutan, zwei dieselbe Menge per os jetzt bereits $3^{1}/_{2}$ Monate lang ohne jede Veränderung des Blutbildes.

Das Gewicht jedes zu diesen Versuchen verwandten Kaninchens betrug rd. 2 kg. Die vier ersten Kaninchen zeigten eine ständige, wenn auch sehr geringe Gewichtszunahme. Ein weiteres Tier (K V) bekam 2,5 mg Blei pro Kilo täglich per os bereits 3 Monate lang, ein sechstes (K VI) 5 mg per kg während $2^1/_2$ Monaten, ohne jede Wirkung; ihr Gewicht bleibt unverändert.

Einem siebenten Kaninchen (K VII) wurden täglich ebenfalls 5 mg Blei per kg nunmehr schon $2^1/_2$ Monate lang verfüttert: das Tier nahm die ersten 4 Wochen ein wenig an Gewicht ab und reagierte nach 14 Tagen mit basophil gekörnten roten Blutkörperchen, und zwar mit 180 auf die Million roter Blutkörperchen. Ihre Zahl nahm noch langsam zu und es stellten sich des weiteren Poikilozyten, Megalozyten und spärliche kernhaltige rote Blutkörperchen ein. Trotz dieses pathologischen Blutbildes ging das Gewicht des Tieres nach der schon erwähnten geringen Abnahme wieder in die Höhe. Es hatten bei dem Tier 70 mg Blei per Kilo, in Tagesdosen von 5 mg verfüttert, genügt, um basophil gekörnte rote Blutelemente zu erzeugen.

Ferner wurden zwei Kaninchen (K VIII und IX) je 2,5 mg Blei pro Kilo subkutan injiziert. Das eine hatte nach 21 Tagen, nachdem insgesamt also 52,5 mg Blei pro Kilo verabfolgt worden waren, die ersten basophil gekörnten roten Elemente, und zwar 250 pro Million. Auch hier gesellten sich Poikilozyten, Megalozyten und kernhaltige rote Blutkörperchen zu den basophil gekörnten.

Kaninchen Nr. IX zeigte die ersten basophil gekörnten Blutkörperchen, 30 an der Zahl, schon nach 10 Tagen, nachdem insgesamt dem Tier 25 mg pro Kilo einverleibt worden waren. Ihre Zahl steigerte sich noch, und es stellte sich eine grofse Zahl kernhaltiger roter Blutkörperchen ein.

Beide Tiere, VIII und IX, nahmen anfangs mäfsig ab, kehrten aber bald zu ihrem ursprünglichen Gewicht zurück.

Besonders erwähnt sei hier ein interessanter Befund bei Kaninchen Nr. IX. Nachdem am 53. Tage nach der ersten Injektion aufser zahlreichen basophil gekörnten roten Elementen eine grofse Zahl kernhaltiger roter und einiger weniger gekörnter

kernhaltiger konstatiert worden war, erschienen 2 Tage später die sehr zahlreichen roten kernhaltigen Blutkörperchen alle gekörnt. Bei vielen unter ihnen war der Prozefs der Abbröckelung der Körner vom Kern an den Bildern in ganz überzeugender Weise zu verfolgen. Alle gekörnten kernhaltigen roten Blutkörperchen waren übrigens metachromatisch gefärbt. Bemerken möchte ich noch, dafs diese Körner mit Giemsa alle deutlich blau tingiert waren, also wohl aus einer nukleinfreien Kernsubstanz bestanden. Wir kommen auf diesen Befund weiter unten zurück.

Schliefslich wurden drei weitere Versuche mit einmaligen grofsen Dosen ausgeführt mit 25 mg, und zweimal mit je 50 mg Blei pro Kilo, auf vier verschiedene Stellen der Haut verteilt. Während bei Nr. X (25 mg) und XII (50 mg pro Kilo) keinerlei Wirkung eintrat, erschienen bei Nr. XI nach 9 Tagen 50 basophil gekörnte rote Blutkörperchen auf die Million nebst einer mäfsigen Anzahl kernhaltiger roter Elemente. Drei Tage später bekam das Tier eine ausgesprochene Lähmung beider hinterer Extremitäten, verbunden mit Blasenlähmung. Ohne dafs sich das Blutbild wesentlich verschlimmert hatte, ging das Tier am 17. Tage ein. Danach hat es den Anschein, als ob die fraktionierte Verabreichung des Giftes eine gröfsere Zahl basophil gekörnter roter Blutkörperchen zu erzeugen imstande wäre.

Es ist von Interesse, die verschiedene Reaktion der Tiere auf dieselben Dosen zu beobachten. Die geringste bei täglicher Fütterung wirksame Dosis lag also bei 5 mg pro Kilo während 14 Tagen, die geringste nach der Injektion wirksame Dosis bei 2,5 mg pro Kilo während 10 Tagen verabreicht. Von einmal subkutan gegebenen Dosen waren 50 mg pro Kilo nach 9 Tagen wirksam.

Die Frefslust blieb bei allen Versuchstieren, auch da, wo deutliche Blutveränderungen vorhanden waren, stets unverringert.

Wenn es erlaubt wäre, die bei Kaninchen Nr. VII gewonnenen Resultate einfach gewichtsproportional auf den Menschen zu übertragen, so würden bei einer 60 kg schweren Person

also täglich 300 mg Blei, im Ganzen 4,5 g nötig sein, um eine ebensolche Blutveränderung zu erzeugen.

Man hat zur Zeit leider noch nicht den geringsten Anhalt dafür, welche Menge nötig ist, um den Menschen chronisch bleikrank zu machen. Ich bin in der Lage, in einem Falle von Bleivergiftung durch Leitungswasser, das pro Liter 2,9 mg Blei enthielt, eine ungefähre Berechnung der Bleimenge anzustellen, die nötig war, die ersten Symptome, sodann das ausgesprochene Bild mit Bleisaum, Paresen, Bleikoliken und schwerer Cachexie zu erzeugen. Der betreffende Patient hatte die Gewohnheit grosse Mengen Wasser zu trinken. Er nahm von dem bleihaltigen Wasser täglich durchschnittlich $2^1/_2$ l zu sich. Der Zeitpunkt der ersten Aufnahme des bleihaltigen Wassers liefs sich genau bestimmen, da ein Umzug stattgefunden hatte. Es dauerte zwei volle Jahre, bis sich die ersten Erscheinungen, bestehend in Wadenschmerzen und öfter wiederkehrenden Wadenkrämpfen einstellten; $2^1/_2$ weitere Jahre, bis sich diese Beschwerden zu dem ausgesprochenen Bilde der chronischen Bleivergiftung gesteigert hatten. Dann erst wurde die Diagnose gestellt und das Blei in dem Leitungswasser nachgewiesen. Darnach würde sich also die Menge des in diesem Falle bis zu den ersten Symptomen nötigen Bleies auf 5,3 g und auf 12,6 g bis zum ausgesprochenen Bilde der Vergiftung berechnen. Voraussetzung für die Richtigkeit dieser Berechnung wäre freilich, dafs das getrunkene Wasser immer 2,9 mg Blei enthielt.

Es ist klar, dafs die Zeit, auf welche sich das fragliche Blei verteilt, von ausschlaggebender Bedeutung ist, ferner die Fähigkeit des Körpers, das Blei zu resorbiren und es später als Blei-Albuminat mit der Galle und den Darmsekreten sowie dem Urin auszuscheiden. Die Schwellendosis dieser Ausscheidung dürfte wie bei allen Salzlösungen individuell stark schwanken, so dafs es bei dem einen in derselben Zeit zu einer grösseren Aufspeicherung im Körper kommt als bei dem andern. Die Feststellung einer Bleibilanze dürfte durch diese vielen mitsprechenden Faktoren zu einem äufserst schwierigen Problem werden.

Bemerkungen über die Herkunft der basophilen Körnelung und über die Metachromasie.

Ich möchte hier etwas näher auf die Genese der basophilen Körner eingehen. Bekanntlich sind die Meinungen darüber noch in 2 Lager geteilt. Die einen, E. Grawitz[1]) an der Spitze, fassen die Körner als Degenerationsprodukte des Protoplasmas der roten Blutkörperchen auf. Die anderen führen sie auf den Kern zurück, so dafs also die basophil gekörnten roten Blutkörperchen jugendliche, unfertige Blutkörperchen darstellten, die zu früh in die Zirkulation gelangt sind (Askanazy, Sabrazès, Naegeli.[2])

Ich selbst habe diesen letzteren Standpunkt in mehreren Publikationen[3]) vertreten, die teils auf klinischen, teils auf experimentellen Studien fufsen. Die Resultate meiner damaligen Untersuchungen habe ich durch meine letzten experimentellen Studien wieder bestätigen können.

Ich möchte hier nochmals auf den schon oben erwähnten Befund bei Kaninchen IX zurückkommen, den ich in ganz ähnlicher Weise schon früher einmal bei Tierversuchen am Institut für Tropenkrankheiten beobachtet habe. (S. Münchner med. Wochenschrift 1903 Nr. 13. Ein Beitrag zur Frage der Blutregeneration.)

Die lediglich an den Ausstrichen eines einzigen Tages gewonnenen Bilder demonstrierten in überzeugender Weise die Ablösung der Körner vom Kern, indem festgestellt werden konnte, dafs dicht um die Kerne der roten Blutkörperchen gröfsere und

1) E. Grawitz, Klin. Pathologie des Blutes. Leipzig 1906. S. 120.

2) Askanazy, Zeitschr. f. klin. Medizin, 1895, Bd. 27.

Sabrazès, XIII. Congres intern. de med. Paris, 1900.

Naegeli, Über die Entstehung der basoph. gek. roten Blutkörperchen. Münch. med. Wochenschr., 1904, Nr. 5.

3) P. Schmidt, Zur Frage der Entstehung der basoph. Körner in den roten Blutkörperchen. Deutsch. med. Wochenschr., 1902, Nr. 44.

Derselbe, Experim. Beiträge z. Pathologie des Blutes. Jena 1902.

Derselbe, Ein Beitrag zur Frage der Blutregeneration. Münch. med. Wochenschr., 1903. Nr. 13.

kleinere Splitter lagerten, während die Kerne selbst ihre scharfen Konturen verloren hatten und Aussparungen in der Gröfse erkennen liefsen, wie sie den anhaftenden basophilen Körnern entsprachen.

Ich kann mich nicht dazu verstehen, es als einen blofsen Zufall anzusehen, dafs bei dem Versuchstier Nr. IX die sämtlichen zahlreichen kernhaltigen roten Blutkörperchen gerade alle gekörnt waren. Man hätte doch erwarten müssen, dafs, wenn der Prozefs der Körnerbildung unabhängig von den Kernen wäre, gekörnte kernhaltige und nichtgekörnte kernhaltige etwa in einem gleichen Verhältnis gestanden hätten wie gekörnte und nichtgekörnte kernlose rote Blutkörperchen. Noch viel weniger vermag ich es als Zufall hinzunehmen, dafs so viele von den Kernen die Körner wie Auswüchse, Warzen aufsitzen hatten.

Wenn E. Grawitz von meinen „sehr sorgfältigen" Untersuchungen sagt, sie seien nicht gut diskutabel, weil die Resultate bei Malariakranken und Rekonvaleszenten gewonnen wurden, und weil nach A. Plehn in solchem Blute mit jungen, basophilen Malariaparasiten gerechnet werden müsse (gemeint sind offenbar die A. Plehnschen Latenzformen der Malariaparasiten, s. A. Plehn: Weiteres über Malariaimmunität und Latenzperiode. Jena 1901)[1]), so möchte ich bemerken, dafs ich 2—3 solcher basophiler Körnchen (um mehr würde es sich nach der A. Plehnschen Ausführung ja nicht handeln) niemals als basophile Körnelung bezeichnet habe. Vor allem aber möchte ich E. Grawitz daran erinnern, dafs A. Plehn bei anderen Malariaforschern mit seinen Latenzformen keinerlei Anklang gefunden hat.[2])

Durch Schaudinns Aufklärung der Spätrezidive mit der Entdeckung der Parthenogenese der Makrogameten in der Milz und im Knochenmark ist die A. Plehnsche Ansicht vollends hinfällig geworden.

1) S. E. Grawitz, Klin. Pathologie des Blutes. Leipzig 1906, S. 121.

2) S. Ruge, Einführung in das Studium der Malariakrankheiten. Jena 1906. S. 32.

Es kann keinem Zweifel mehr unterliegen, dafs A. Plehn die besonders in metachromatischen roten Blutscheiben vorkommenden vereinzelten Kernrestchen für diese Urformen gehalten hat.

Untersuchung der basophilen Körnelung und der Metachromasie mit Dunkelfeldbeleuchtung.

Durch die Betrachtung der basophil gekörnten und metachromatischen roten Blutkörperchen mit dem Ultramikroskop konnte man weitere Aufschlüsse erwarten. Auffallend war, dafs die basophilen Körner im Dunkelfelde in viel gröfserer Zahl als bei gewöhnlicher Beleuchtung als goldgelbe Kügelchen in allen Gröfsen zur Darstellung kamen (Methylenblaupräparate).

Sie erscheinen also in der Komplementärfarbe zu ihrer eigenen Farbe wie alle gefärbten Gebilde im Dunkelfeld.

Die Untersuchung geschah in der Weise, dafs zunächst ein bestimmtes, basophil gekörntes, rotes Blutkörperchen mit dem gewöhnlichen Abbe'schen Kondensor eingestellt, hierauf erst der Reichert'sche Ultrakondensor eingeführt wurde, so dafs man dasselbe Blutkörperchen wieder in's Gesichtsfeld bekam.

Eine besondere Überraschung brachte die Untersuchung der metachromatischen roten Elemente. Dieselben haben sich samt und sonders dabei als Blutkörperchen mit feiner Körnelung entpuppt, die mit gewöhnlicher Beleuchtung, weil zu fein, nicht mehr auflösbar ist. Es zeigt sich übrigens, dafs auch in dieser feinsten metachromatischen Körnelung ebenso wie in der gröberen die Körnchen in verschiedenen Gröfsen vorhanden sind. Derselbe Befund wurde bei den metachromatischen kernhaltigen roten Elementen erhoben; auch diese Metachromasie liefs sich im Ultramikroskop als feinste Körnelung analysieren. Stellenweise konnte auch hier die Oberfläche der Kerne als dicht besetzt von in der Ablösung begriffenen Körnchen erkannt werden. Es dürfte also nach diesem Befund kein Zweifel mehr darüber bestehen, dafs die Metachromasie in diesen Präparaten ein weiteres Auflösungsstadium der basophilen Körner darstellen kann: na-

türlich kann auch Kernsubstanz ohne das Zwischenstadium der Körnelung direkt karyolytisch ins Hämoglobin übertreten; jedenfalls aber ist sie, wie die Bilder bei der Dunkelfeldbeleuchtung erweisen, nicht im völlig gelösten, sondern im Zustande feinster Tröpfchen im Hämoglobin enthalten. Dieser Zustand einer die Metachromasie darstellenden unvollständigen Karyolyse ist die Regel bei den kernhaltigen roten Blutkörperchen des roten Marks, wo es wohl infolge der anderen chemischen Reaktion des zellreichen roten Marks seltener zu einem karyorrhektischen Kernschwund kommt als im alkalischen zirkulierenden Blute. Vielleicht wirkt die Bewegung der Blutkörperchen im Blutstrom noch befördernd auf diese Karyorrhexis ein. Man kann sich vorstellen, dafs der Prozefs der Auftrümmerung der Kerne im Blutstrome zu Körnern so rasch erfolgt, dafs man es als einen glücklichen Zufall betrachten mufs, wenn man einmal die Übergangsform vom Kern zu den Körnern im Moment des Ausstreichens in die Präparate bekommt. Ich habe diesen glücklichen Zufall bei meinen Studien erst zweimal erlebt. Dafs die Ausschwemmung der jungen Blutkörperchen in pathologischen Fällen meist nicht kontinuierlich, sondern stofsweise erfolgt, habe ich in meinen früheren Publikationen bereits dargetan.

Diese Untersuchungen an den metachromatischen roten Blutkörperchen mittels Ultramikroskop sind also eine neue Bestätigung meiner in den „Experimentellen Beiträgen zur Pathologie des Blutes“ schon ausgesprochenen Annahme, dafs die Metachromasie ein weiteres Stadium der basophilen Körnelung darstellen kann.

Untersuchungen an Bleiarbeitern.

Da das Blutbild bei unsern Versuchstieren schon ein pathologisches war, während sie in ihrem ganzen Verhalten noch nicht die geringsten Änderungen wahrnehmen liefsen, war es von grofsem Interesse, einmal eine grosse Zahl von Untersuchungen an Arbeitern der Bleigewerbe (Schriftsetzer, Schriftgiefser, Maler

usw.) vorzunehmen, welche in ihrer Arbeitsfähigkeit noch in keiner Weise geschädigt erschienen und keinerlei deutliche Symptome einer Bleierkrankung zeigten. Durch gütige Vermittlung eines hiesigen praktischen Arztes wurde mir Gelegenheit geboten, eine Anzahl Arbeiter aus Bleigewerben in der oben angeführten Richtung zu untersuchen. Diese ersten Blutuntersuchungen fanden nun seitens dieser Leute ein solches Entgegenkommen, dafs dieselben weitere Arbeitsgenossen mitbrachten. So kam es, dafs sich die Arbeiter der verschiedensten Bleigewerbe zahlreich, ohne jede Aufforderung, nach Arbeitsschlufs ins hygienische Institut zum Zwecke einer Blutuntersuchung begaben und es mir ermöglichten, jetzt schon 546 Leute der verschiedensten Bleibetriebe auf das Vorhandensein von basophil gekörnten Blutkörperchen hin zu untersuchen.

Parallel zu diesen Leuten nahm ich Untersuchungen an 110 Personen vor, bei denen eine berufliche Berührung mit Blei auszuschliefsen war. Eine Auswahl der Personen fand in keiner Weise statt.

Eine Anzahl Fälle von Bleivergiftung konnte ich mit gütiger Erlaubnis des Herrn Geheimrat Curschmann am hiesigen Jakobskrankenhause untersuchen.

Unter den 546 Bleiarbeitern waren nun 15, welche klinisch die sicheren Zeichen der Bleivergiftung boten (deutlicher Bleisaum, Koliken mit Verstopfung, z. T. Paresen, fahle Gesichtsfarbe), darunter zur Zeit der Untersuchung noch 11 beschränkt arbeitsfähig; ferner 6, die vom klinischen Standpunkte als sehr wahrscheinliche Fälle betrachtet werden konnten. Schliefslich wurden 224 als klinisch unsicher und 301 als symptomlos registriert.

Teilt man die Fälle in 2 Gruppen derart, dafs man 100 basophil gekörnte rote Blutkörperchen auf die Million als Grenze annimmt, so lassen sich die Befunde wie folgt tabellarisch zusammenstellen:

546 Arbeiter aus Bleibetrieben.

	Auf 1 Million rote Blutkörperchen	
	basophil gekörnte	metachromatische
bis 100	98 Arbeiter = 17,9 %	82 Arbeiter = 15 %
über 100	51 » = 9,2 »	44 » = 8 »
keine	397 » = 72,9 »	420 » = 77 »
Gesamt	546 Arbeiter = 100 %	546 Arbeiter = 100 %

110 Personen aus anderen Betrieben.

	Auf 1 Million Blutkörperchen.	
	basophil gekörnte	metachromatische
bis 100	14 Personen = 12,7 %	18 Personen = 16,4 %
über 100	2 » = 1,8 »	6 » = 5,4 »
keine	94 » = 85,5 »	86 » = 78,2 »
Gesamt	110 Personen = 100 %	110 Personen = 100 %

Es weisen also von den sämtlichen 546 Fällen 17,9 % bis zu 100, 9,2 % über 100 basophil gekörnte rote Blutkörperchen auf.

Von den anderen 110 Nichtbleileuten hatten 12,7 % bis zu 100 und 1,8 % über 100 der charakteristischen roten Elemente.

Hiernach möchte ich annehmen, dafs man Werte unter 100 basophil gekörnter roter Elemente kaum zu Schlüfsen verwenden darf. Bei dem Befund über 100 handelt es sich also um ein 5 fach häufigeres Auftreten gekörnter roter Blutkörperchen bei Bleiarbeitern, das doch kaum als ein zufälliges angesehen werden dürfte.

Metachromatische rote Blutkörperchen hatten von der 1. Gruppe 15 % unter 100, 8 % über 100: von der 2. Gruppe der Nichtbleileute 16,4 % unter 100 und 5,4 % über 100, so dafs man das Verhalten der metachromatischen roten Blutkörperchen wohl kaum zu Schlufsfolgerungen mit heranziehen darf.

Von besonderer Bedeutung ist das Ergebnis der Untersuchung bei den 15 klinisch sicheren Fällen von Bleierkrankung.

Alle 15 wiesen über 100 basophil gekörnte rote Blutkörperchen auf, ein Fall über 1000, klinisch der vorgeschrittenste mit deutlicher Parese der Arme.

Bemerkenswert ist, dafs 5 unter diesen Fällen einen annähernd normalen Hämoglobingehalt aufwiesen, 7 nur einen Hämoglobingehalt unter 80 % Sahli.

Unter den 6 klinisch sehr wahrscheinlichen Fällen hatten 5 einen Befund über 100, während der 6. angeblich Bleikranke überhaupt keine Blutveränderungen zeigte.

Im ganzen also hatten unter den sehr wahrscheinlichen Fällen 83,3 % einen positiven Befund über 100.

Von den genannten 224 klinisch unsicheren Fällen hatten nur 4,5 % einen Befund über 100; beachtenswert ist, dafs unter diesen 4,5 % bisher schon zwei durch den chemischen Nachweis von Blei im Urin als Bleivergiftung erwiesen werden konnten. (Beidemal waren nur Spuren von Blei vorhanden.)[1])

Der eine Patient davon zeigte gichtische Veränderungen der Gelenke, der andere klagte über chronische Kopfschmerzen und Nervosität.

Unter den 301 symptomlosen Leuten endlich wurden 5,9 % mit einem Befund über 100 gefunden. Diese 5,9 % sind somit als „gesunde Bleiträger" aufzufassen, bei denen man früher oder später auf Krankheitserscheinungen gefafst sein mufs.

Erwähnt sei noch, dafs sich unter den als „sicher" aufgeführten 15 Fällen 1 Maler befindet, welcher nur über „zeitweilige Schwindelanfälle" klagt, aber doch einen ausgesprochenen Bleisaum zeigt, der also den „gesunden Bleiträgern" sehr nahe steht. Auch in diesem Falle wurde Blei im Urin chemisch nachgewiesen (0,5 mg in 1000 ccm Urin).

---

1) Bleinachweis im Urin (modifiziert nach Schmidt, ph. Chem. I 697). Nach Eindampfen die organische Substanz mit chlorsaurem Kali und Salzsäure zerstören. Filtrieren, heifs auswaschen, schwach sauer machen, H_2S einleiten. Filtrieren, mit konzentr. Salpetersäure oxydieren. Filtrieren, auswaschen, H_2SO_4 hinzufügen: das ausgefällte $PbSO_4$ mit basisch weinsaurem Ammonium lösen, H_2S einleiten, PbS mit verdünnter Salpetersäure lösen, kolorimetrisch als Chromblei bestimmen.

Er hatte einen Hämoglobingehalt von 78 % (Sahli) und 530 basophil gekörnte rote Blutkörperchen in der Million.

In der folgenden Tabelle sind die Leute nach den verschiedenen Gewerben und nach den Prozentsätzen zusammengestellt, mit denen sie bei den Befunden über 100 basophil gekörnter roter Blutkörperchen beteiligt sind.

	Zahl der Leute	Befunde über 100
Maler, Lackierer	78	15,4 %
Schriftgiefser, Schmelzer	95	12,6 »
Galvanoplastiker, Stereotypeure, Fraiser	43	11,6 »
Klempner	32	9,4 »
Notenstecher	44	9,0 »
Schriftschleiferinnen, Schriftschneiderinnen	27	3,7 »
Schriftsetzer	226	5,8 »

Es dürfte wohl nicht zufällig sein, dafs die Maler und Lackierer auch in dieser wie in allen Statistiken obenan stehen, während die Setzer und Schleiferinnen mit nur geringen Zahlen vertreten sind.

Von einer Anzahl der Arbeiter liefsen wir, ohne dafs sie sich nach Schlufs ihrer Arbeit gereinigt hatten, Händewaschungen in essigsäurehaltigem Wasser vornehmen, um einen Begriff davon zu bekommen, wie viel Blei bei der Arbeit an den Fingern haften bleibt.

Das Waschwasser wurde eingedampft und in der oben angegebenen Weise chemisch untersucht. Die gefundenen Bleimengen sind in der nächsten Tabelle wiedergegeben:

	Menge Blei	Arbeitsstunden
Lackierer	168 mg Blei	4 (hat trocken abgeschliffen)
Klempner	44 » »	5 (hat gelötet)
Schriftgiefser . . .	31 » »	5
Schriftschleiferin . .	21 » »	5
Notenstecher . . .	11 » »	5
Schriftsetzer . . .	4 » »	5

Auch in diesem Verzeichnis steht wiederum der Lackierer obenan; derselbe hatte eine Arbeit verrichtet, die mir durch die Bildung von Bleistaub (Bleiweifs) aufserordentlich gesundheitsschädlich zu sein scheint: das sog. Abschleifen. Dieses Abschleifen des ersten Bleiweifsanstrichs mittels Glaspapier geschieht, wie ich wiederholt feststellen konnte, immer trocken, da die Verhältnisse der Arbeitsstätten meist ein feuchtes Arbeiten verbieten (z. B. Rücksicht auf Parkettboden). Die Staubbildung ist dabei, noch dazu direkt in Mundhöhe, eine so erhebliche, dafs die Möglichkeit der Aufnahme von Bleistaub durch die Atmung aufser Zweifel steht, wiewohl im vorliegenden Fall der chemische Nachweis von Blei im Mundspülwasser des Lackierers bei seiner Anwesenheit im Institut nicht mehr gelungen ist.

Ebensowenig gelang es bei 2 Klempnern, die stundenlang zuvor mit Stichflamme gelötet hatten, und bei Schriftsetzern, die nach 5stündiger Arbeit in staubiger Luft Mundspülungen vornahmen. Vielleicht ist der Mifserfolg darin begründet, dafs das aufgenommene Blei immer sofort verschluckt wird, sodafs es zur Ansammlung einer chemisch nachweisbaren Menge im Munde nicht kommen kann.

Hingegen war es bei einem Klempner, der ohne sein Arbeitszeug frühmorgens berührt zu haben, möglich, im Waschwasser 0,2 mg Blei nachzuweisen, nachdem er am Abend zuvor nach der Arbeit seine Hände mit Bimsstein und Soda und am selben Morgen mit Seife gewaschen hatte. Diese Befunde lassen die Aufnahme des Bleis durch die Finger als den häufigeren Weg erscheinen und sind für die im Bleigewerbe beschäftigten Arbeiter eine neue Mahnung, sich der gröfsten Sauberkeit im Betriebe zu bedienen, vor allem, vor jeder Mahlzeit eine pedantische Waschung vorzunehmen. Rauchen, Schnupfen, Primen, Offenstehenlassen von Speisen und Getränken, Anfeuchten der Finger mit Speichel (Notenstecher, Schriftsetzer) sollten unter allen Umständen vermieden werden.

Das radikalste Mittel, bei den Malern Bleivergiftungen überhaupt unmöglich zu machen, wäre freilich die gänzliche Abschaffung des Bleiweifses aus dem Malergewerbe. Es scheint

leider nicht möglich zu sein, das Bleiweifs als Deckfarbe durch eine andere Farbe, etwa Zinkweifs oder Lithopone zu ersetzen; wenn aber dieser Nachweis erbracht würde, dann sollte die Einführung nicht bleihaltiger Ersatzfarben doch mit allen Mitteln angestrebt werden.

Eine besondere Besprechung erheischen noch die Befunde bei den Schriftschleiferinnen, die in der Liste der im Waschwasser nachgewiesenen Bleimengen mit 21 mg, bei den Befunden über 100 basophil gekörnter roter Blutkörperchen mit nur 3,7% verzeichnet sind, wo ferner 44,4% unter ihnen einen Hämoglobingehalt von unter 80% (Sahli) und deutliche Zeichen einer Chlorose aufwiesen. Ich sehe nur zwei Wege der Erklärung dieser kontrastierenden Erhebungen: entweder die Arbeiterinnen nehmen infolge gröfserer Sauberkeit weniger Blei auf als die Männer, was mir unwahrscheinlich vorkommt, oder aber sie reagieren nicht in dem Mafse mit basophil gekörnten roten Blutkörperchen wie die Männer. Jedenfalls gehört die basophile Körnung nicht zum Bilde chlorotischer Zustände. Ob die Chlorose selbst nur durch das Blei verschlimmert wird, lasse ich dahingestellt sein. Es wäre von grofsem wissenschaftlichen Interesse, bei künftigen Untersuchungen diesem Verhalten besondere Aufmerksamkeit zu schenken.

Für die Anhänger der Auffassung der basophilen Körner als Kernderivate ist das Ausbleiben der gekörnten roten Elemente bei den Arbeiterinnen nichts Auffälliges, da das Charakteristische an der Chlorose ja die Hämoglobinarmut ohne zahlenmäfsige Verminderung der roten Blutkörperchen ist, da also eine überstürzte Bildung roter Blutkörperchen wie bei Anämie nicht stattfindet. Der Prozefs der Entkernung kann bei der Chlorose langsam im Knochenmark durch Karyolyse von statten gehen, so dafs es zu einer Ausschwemmung unfertiger kernhaltiger roter Elemente und nachfolgender Zertrümmerung dieser Kerne überhaupt nicht kommt.

Schlufsfolgerungen für die Gewerbehygiene.

Es dürfte nach dem Vorausgehenden keinem Zweifel mehr unterliegen, dafs die basophil gekörnten roten Blutkörperchen, wenn in gröfserer Menge (mehr als 100 in der Million) vorhanden, ein äufserst wertvolles Hilfsmittel für die Diagnostik der Bleivergiftung darstellen; dieses Hilfsmittel kann um so segensreicher wirken, als es uns die Krankheit in einem Stadium erkennen läfst, wo überhaupt noch keine Erscheinungen der Krankheit vorzuliegen brauchen.

Man darf die Hoffnung aussprechen, dafs künftig dieser hämatologische Befund bei der Überwachung der Arbeiter in Bleibetrieben mit grofsem Nutzen wird mitverwendet werden können. Da die überwachenden Ärzte dabei wohl kaum in Frage kommen dürften wegen der damit verbundenen Mehrbelastung und der mangelnden Schulung im Mikroskopieren, würden die hygienischen Untersuchungsämter in erster Linie in Betracht kommen. Es wäre eine dankbare Aufgabe, die Arbeiter in besonders gefährdeten Betrieben (Bleiweifsfabriken, Blei-, Zinkhütten, Akkumulatorenfabriken) in fortlaufender hämatologischer Kontrolle zu halten. Liegt ein positiver Befund über 100 vor, so könnte ja obendrein noch eine weitere Kontrolle durch die Untersuchung des Urins auf Blei stattfinden, die sich ebenfalls an den hygienischen Instituten vornehmen liefs. Es würde der Mühe lohnen, wenigstens einmal einen Versuch mit gut eingeschultem Personal während einiger Jahre auszuführen. Man kann jetzt schon prophezeien, dafs die Krankenstatistiken bei dieser Art der Untersuchungen ein wesentlich anderes Bild zeigen werden. Ich wage nicht zu entscheiden, ob sie dann mehr wirkliche Vergiftungsfälle aufweisen werden als bisher oder mehr rheumatisch-nervöse und intestinale Affektionen.

Nach unserer Statistik, bei welcher unter 224 unsicheren Fällen nur 4,5% einen Befund über 100 aufwiesen, müfste das letztere der Fall sein.

Übrigens bedienen sich unserer Untersuchungen jetzt schon eine grofse Anzahl hiesiger praktischer Ärzte, die uns die Leute zur Blutuntersuchung zuschicken. Sie erhalten sodann die Resultate der Hämoglobinbestimmung, der Auszählung der basophil gekörnten roten Blutkörperchen und eventuell der chemischen Urinuntersuchung schriftlich mitgeteilt.

Schlufssätze.

1. Es gelingt, sowohl durch Verfütterung, wie durch subkutane Injektion von Bleinitrat auch bei Kaninchen basophil gekörnte rote Blutkörperchen zu erzeugen, die beim Menschen, nach E. Grawitz, wenn in gröfserer Zahl vorhanden, für Bleivergiftung charakteristisch sind, falls nicht Malaria, perniciöse Anämie, Carcinom-Cachexie, Darmfäulnis oder Sepsis vorliegen.

2. Die mindeste Bleimenge, bei welcher durch Verfütterung gekörnte rote Blutkörperchen erzeugt wurden, beträgt 5 mg Blei pro Kilo Kaninchen und täglich 14 Tage lang verabreicht, bei subkutaner Einverleibung 2,5 mg pro Kilo und 10 Tage lang injiziert.

   Bleimengen von 0,25 mg Blei pro Kilo subkutan und per os und 2,5 mg pro Kilo per os blieben auch bei einer täglichen Verabreichung von 3½ Monaten bez. 3 Monaten (2,5 mg pro dosi) ohne Wirkung, obgleich im Ganzen pro Kilo 26 bez. 226 mg Blei gegeben worden waren.

   Bei einmaliger subkutaner Einverleibung von 50 mg pro Kilo traten nur in einem Falle basophil gekörnte Elemente nach 9 Tagen, 3 Tage später eine vollständige Lähmung der hinteren Extremitäten und der Blase auf; nach 17 Tagen erfolgte der Tod.

Ein anderes Tier, das die gleiche Menge von 50 mg pro Kilo subkutan erhielt, reagierte auch nach 6 wöchiger Beobachtung in keiner Weise.

3. Es bestehen somit grofse individuelle Verschiedenheiten gegen Bleigaben, sowohl wenn es per os, als auch wenn es subkutan verabreicht wird.

4. Die basophilen Körner sind Derivate des Kerns, wie unter anderem aus Befunden an gekörnten kernhaltigen roten Blutkörperchen (Kaninchen IX) mit Sicherheit hervorgeht. Wenn die gekörnten roten Blutkörperchen in Fällen, wo sie in der Zirkulation reichlich vorhanden sind, im Knochenmarke selten gefunden werden, so beweist das nur, dafs die Zertrümmerung der Kerne erst im Blutstrome und dann wahrscheinlich sehr rasch stattfindet. Aus der Schnelligkeit dieses karyorrhektischen Prozesses resultiert die Unwahrscheinlichkeit, solche Übergangsformen im Blutstrome öfter zu finden; in einzelnen Fällen werden sie doch gefunden und weisen dann alle Phasen der Zertrümmerung der Kerne bis zur Körnelung auf.

5. Die Metachromasie hat sich bei ultramikroskopischer Untersuchung gleichfalls als feinste Körnelung mit sehr beträchtlichen Gröfsenunterschieden unter den Körnern erwiesen. Die Metachromasie ist also entweder ein weitergehendes Verteilungsstadium der gröberen basophilen Körnelung, oder aber sie geht direkt durch Vorherrschen eines intensiven karyolytischen Prozesses ohne das Zwischenstadium gröberer Körnelung aus der Beimengung von Kernsubstanz zum Hämoglobin hervor. Diese Karyolyse ist nie eine vollständige, sodafs die Kernsubstanz immer in Gestalt, wenn auch noch so feiner Körnchen im Hämoglobin kolloidal enthalten ist. Das trifft auch für die metachromatischen kernhaltigen roten Blutkörperchen zu. Im Dunkelfeld erscheinen die blaugefärbten

basophilen Körner als goldgelbe Kugeln (in der Komplementärfarbe).

6. Beträgt die Zahl der in der Million roter Blutkörperchen gefundenen basophil gekörnten unter 100, so ist der Befund zu Schlüfsen auf eine stattgefundene Bleivergiftung nicht ohne weiteres verwendbar. Der Grenzwert basophil gekörnter roter Blutkörperchen ergab sich aus Blutuntersuchungen, welche bei nicht mit Blei beschäftigten Personen gemacht wurden.

7. Unter 546 Untersuchungen von mit Blei beschäftigten Personen waren 15 klinisch sichere Fälle von Bleivergiftung (2,7 %). **Dieselben zeigten sämtlich über 100 basophil gekörnte rote Blutkörperchen auf die Million** (100 %).

   Unter 6 wegen Bleierkrankung ärztlich behandelten Fällen zeigten diesen Befund 5 (83,3 %); unter 224 diagnostisch unsicheren nur 4,5 %, während unter 301 Bleiarbeitern ohne irgend welche subjektive Erscheinungen 5,9 % einen positiven Befund aufwiesen. Unter jenen 4,5 % der diagnostisch unsicheren Fälle konnten noch 2 nachträglich durch den Bleinachweis im Urin sicher gestellt werden.

   Unter 110 Personen, die nie mit Blei in ihrem Beruf in Berührung gekommen waren, zeigten nur 1,8 % einen Befund über 100 basophil gekörnter roter Blutkörperchen (2 Fälle). Der eine davon hatte vor 30 Jahren eine schwere Malaria, der andere kurz zuvor eine Sepsis nach Angina durschgemacht.

8. **Der Befund über 100 basophil gekörnter roter Blutkörperchen in der Million ist eine äußerst wertvolle Stütze für die Diagnose der Bleivergiftung.**

9. Mit Hilfe dieser Blutuntersuchung gelingt es, die Leute in einem so frühen Stadium der Bleivergiftung herauszufinden, dafs man hoffen darf, künftig die ganz schweren

chronischen Formen der Bleikrankheit ganz verhüten zu können.

10. Das hygienische Institut der Universität Leipzig wird bereits von vielen praktischen Ärzten als Untersuchungsstelle zur Ermittlung der Bleiintoxikation angerufen.

Zum Schlusse dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Hofmann für die Anregung zu diesen Untersuchungen, sowie für die mir dabei erteilten wertvollen Winke hiermit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Enthalten Leukozyten antihämolytische Stoffe?

Von

Dr. Anton Wafsmuth,
Assistent der medizinischen Klinik.

(Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität Innsbruck. Vorstand: Prof. Dr. A. Lode.)

Metschnikoff (1) hat im Jahre 1883 darauf hingewiesen, dafs die Leukozyten imstande sind, Mikroorganismen aufzufressen und abzutöten. Neben dieser als Phagozytose benannten Eigenschaft dieser beweglichen Zellen schien es schon frühzeitig naheliegend, dafs die Leukozyten auch an der Produktion der im Serum befindlichen bakteriziden Stoffe beteiligt sind. Hankin (2) war der erste, der darauf hinwies, dafs die bakterizide Wirkung des Blutes von den Granulis der Leukozyten ausgehe. Eine weitergehende Entscheidung in der Frage nach der Abstammung der Alexine brachte Hahn (3) im Jahre 1895, indem er die Leukozyten durch Gefrieren und Wiederauftauen abtötete und dabei zeigte, dafs sowohl die lebenden als die toten Leukozyten und ihre Extrakte unter Umständen eine weit gröfsere bakterizide Wirkung ausüben als Blut und Blutserum des gleichen Tieres. Van de Velde (4) und Bail (5) gewannen bakterizide Substanzen aus den Leukozyten, ersterer durch Auslaugen mit destilliertem Wasser, letzterer durch die abtötende Wirkung des Leukozidins auf die Leukozyten. Vorher war es auch Schattenfroh (6) gelungen, durch Zerreiben der Leukozyten mit Quarzsand bakterizide Leukozytenstoffe zu extrahieren.

War durch diese und durch die Arbeiten anderer Autoren einerseits festgestellt, dafs die Leukozyten bei der Vernichtung lebender Mikroorganismen beteiligt sind, so war es anderseits interessant, zu erforschen, ob die Leukozyten Schutzstoffe enthalten, welche gelöste schädliche Stoffwechselprodukte, z. B. Toxine oder andere schädigende Stoffe zu neutralisieren vermögen.

Bekanntlich besitzen gewisse Toxine neben anderen schädigenden Eigenschaften auch die Fähigkeit, rote Blutkörperchen aufzulösen. Es war nun der leichten Technik wegen verlockend, nachzusehen, ob die Leukozyten in irgendeiner Weise befähigt sind, diese hämolytische Wirkung der Bakterientoxine zu verhindern.

Wir müssen uns hier erinnern, dafs bei der Differenzierung der Blut- und Serumalexine und der Phagozytenextrakte (Phagozidin) von Schattenfroh die Tatsache festgestellt worden ist, dafs die letzteren, im Gegensatze zu den ersteren, nicht in der Lage sind, Erythrozyten zur Lösung zu bringen, mithin kein Hämolysin enthalten. Anderseits war es nicht erforscht, inwiefern etwa Leukozytenextrakte der hämolytischen Wirkung des Blutserums entgegenwirken.

Zuerst studierte ich demnach die Frage, ob die lösende Wirkung des Kaninchenserums auf Meerschweinchenerythrozyten durch Leukozytenextrakte der Kaninchen aufgehoben oder beeinflufst werde. Fügt man einen Tropfen in physiologischer Kochsalzlösung gewaschener Erythrozyten von Meerschweinchen zu einer kleinen Menge (2 ccm) von reinem Kaninchenserum hinzu und läfst dieses Gemisch durch 2 Stunden im Brutschrank, dann in der Kälte stehen, so findet man am nächsten Tag, dafs sich die roten Blutscheiben des Meerschweinchens vollständig aufgelöst haben. Es tritt also komplette Hämolyse ein. Verdünnt man dagegen das Serum des Hasens mit physiologischer Kochsalzlösung, so gelangt man schon bald zu einem Punkt, wo der Tropfen Erythrozyten nicht mehr vollständig gelöst wird und schliefslich zu einer Verdünnung, welche überhaupt nicht mehr imstande ist, Hämolyse zu erzeugen. Ich habe mir solche

Verdünnungen in der Weise hergestellt, dafs ich mit 0,1 ccm reinen Serums begonnen und Reihen hergestellt habe, in welchen

(siehe Tabelle I)

die Menge des Serums bis auf 2 ccm stieg, wobei immer so viel physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt wurde, dafs die Gesamtmenge stets 2 ccm betrug. In diese Verdünnung wurde dann immer 1 Tropfen gewaschener Meerschweinchen-Erythrozyten von der ursprünglichen Blutkonzentration hinzugesetzt. Es zeigte sich nun, dafs noch bei einer Verdünnung von 1,5 ccm Serum auf 0,5 NaCl-Lösung komplette Hämolyse eintrat, während erst bei 0,1 ccm Serum auf 1,9 NaCl die Hämolyse überhaupt ausblieb. Doch zeigten die Erythrozyten der einzelnen Tiere in ihrer Resistenz ein sehr verschiedenes Verhalten, so dafs kom-

(siehe Tabelle II)

plette Hämolyse erst bei reinem Serum auftrat. Es war daher immer nötig, für jeden Versuch einen Kontrollversuch anzulegen.

Tabelle I.

Serum . . . . Kochsalz.	0,1 1,9	0,2 1,8	0,5 1,5	1 1	1,5 0,5	2 0
Nach 2 Std. Bruttemperatur	θ	θ	Kuppe	i. H.	c. H.	c. H.
» 24 Stunden	θ	Kuppe	i. H.	i. H.	c. H.	c. H.

Tabelle II.

Serum . . . . Kochsalz . . .	0,1 1,9	0,2 1,8	0,3 1,7	0,4 1,6	0,5 1,5	0,7 1,3	1 1	1,5 0,5	2 0
Nach 2 St. Bruttemp.	θ	θ	θ	Kuppe	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H.	c H.
» 24 Stunden .	θ	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H	i. H.	i. H.	i. H.	c. H.

Um nun die Wirkung der Leukozyten näher zu studieren, wurden zuerst Tropfen von Leukozyten hinzugesetzt, welche in

(siehe Tabelle III und IV)

folgender Weise gewonnen wurden: Nach dem Verfahren von Hahn wurde grofsen, über 2 kg schweren Kaninchen 10 ccm einer gekochten mit Weizenstärke versetzten Aleuronatauf-

schwemmung von dickbreiiger Konsistenz in die rechte Brusthöhle injiziert. Die Tiere wurden nach 24—26 Stunden durch Entbluten getötet und das Blut zur Serumgewinnung aufgehoben. In der Brusthöhle des Tieres befanden sich dann 10—20 ccm trüben Exsudates, welchem allerdings ab und zu etwas Blut beigemengt war. Zur Verwendung gelangten ausschliefslich farblose Exsudate oder solche, welche höchstens Spuren von Blut enthielten. Das Exsudat wurde hierauf zentrifugiert und die Leukozyten, nach den Angaben Schattenfrohs (6), wiederholt mit Kochsalzlösung gewaschen und durch Schütteln fein verteilt, oder das gebildete Klümpchen mit sterilem feinem Quarzsand mechanisch zerrieben.

Die so präparierten Leukozyten stellen einen dünnen Brei dar, welcher sich leicht tropfenweise zufügen läfst. Zerreibt man die Leukozyten nur in geringem Grade, so verlieren die meisten ihre Lebensfähigkeit durchaus nicht, wie man sich teils durch ihre amöboiden Bewegungen, teils durch ihr Vermögen, Methylenblau zu reduzieren, zu überzeugen vermag. [Neifser und Wechsberg (7)].

Es wurden nun Verdünnungen nach obigem Verfahren hergestellt, wobei in jedes Reagensgläschen je 1 Tropfen Leukozytenbreies hinzugesetzt wurde. Darauf wurden die Röhrchen bei 37° durch 2 Stunden in den Brutschrank gestellt, erst dann wurden die Erythrozyten in der eben beschriebenen Weise hinzugefügt und die Röhrchen neuerdings der Bruttemperatur durch 2 Stunden ausgesetzt.

Die Beobachtungen wurden immer am nächstfolgenden Tage durchgeführt. Bei jedem Versuch wurde die verwendete physiologische Kochsalzlösung (8,5 : 1000) daraufhin geprüft, ob dieselbe an und für sich nicht imstande sei, die Erythrozyten in der Wärme zu lösen. Desgleichen wurde, um zu zeigen, dafs die Hämolyse auf enzymatischer Grundlage beruht und nicht Anisotonie ist, stets jedem Versuch ein Röhrchen mit inaktiviertem Serum (½ Stunde auf 60° erwärmt) beigefügt. Die Hämolyse mufste dann ausbleiben.

Zur Nomenklatur meiner Tabellen will ich erwähnen, dafs ich zwischen der kompletten (c. H.) und der ausgebliebenen Hämolyse (0) noch 2 Grade unterschieden habe. Ich bezeichne als Kuppe den Zustand der eingetretenen Lösung, wenn sich über den zu Boden gesenkten Leukozyten eine Zone hämolytisch gefärbter Flüssigkeit befindet, wobei aber immer ein Teil der Flüssigkeit farblos bleiben mufs. Die dazwischen liegenden Stufen bis zur kompletten Hämolyse bezeichne ich durchaus als inkomplette Hämolyse (i. H.).

Tabelle III.

Serum	0,2	0,4	0,8	1,5	
Kochsalz	1,8	1,6	1,2	0,5	
Nach 2 Std. Bruttemp.	0	0	Kuppe	i. H.	Kontrolle.
» 24 Stunden	0	i. H.	i. H.	i. H	
» 2 Std. Bruttemp.	0	0	0	Kuppe	Mit je 1 Tropfen Leukozytenbreis, welcher durch Kochsalzwaschungen und Schütteln digeriert wurde.
» 24 Stunden	0	0	i. H.	i. H.	

Tabelle IV.

Serum	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,7	1	
Kochsalz	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	1,3	1	
Nach 2 St. Bruttemp.	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	c. H.	c. H.	Kontrolle.
» 24 Stunden	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	c. H.	c. H.	c. H.	
» 2 St. Bruttemp.	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	Mit je 1 Tropf. Leukozytenbreis wie in Versuch III.
» 24 Stunden	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	c. H.	

Tabelle IX.

Serum	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	
Kochsalz	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	1	
Nach 2 St. Bruttemp.	0	0	0	0	0	Kuppe	Kontrolle.
» 24 »	0	Kuppe	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H.	
» 2 » Bruttemp.	0	0	0	0	0	0	Mit je 1 Tropfen Leukozytenbreis wie in Tabelle III und IV.
» 24 »	0	0	0	0	0	Kuppe	

Tab. III, IV zeigen schon deutlich die Schutzwirkung der Leukozyten. Während der Kontrollversuch schon bei einer Verdünnung von 0,8 auf 1,6 eine Hämolyse ergab, trat diese in der mit Leukozyten versetzten Reihe erst bei 0,8 auf 1,2 ein. Auch in der Tab. IV sieht man noch eine ähnliche Schutzwirkung. Die Hämolyse tritt in den Kontrollversuchen bei 0,1 ein, während die Leukozyten eine totale Schutzwirkung noch bei 0,2 auf 1,8 und eine partielle noch bei 0,7 auf 1,3 zeigen. Anscheinend handelt es sich hier um Erythrozyten, welche eine geringere Resistenz zeigen als in Tab. III. Geradezu überraschend war der Versuch in Tab. IX, wo erst bei einer Verdünnung von 1:1 Hämolyse auftrat, während die Kontrolle schon bei 0,2:1,8 Spuren einer Hämolyse zeigte.

Die folgenden Versuche zeigen das Verhalten der in den Leukozyten aufgespeicherten Enzyme gegenüber den Temperatureinflüssen.

Tabelle VI.

Serum . . . . Kochsalz . . .	0,1 1,9	0,2 1,8	0,3 1,7	0,4 1,6	0,5 1,5	
Nach 2 St. Brütung	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Kontrolle.
» 24 »	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	
» 2 » »	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Zusatz von je 1 Tropfen auf 60° C erwärmt. Leukozyten. Leukozyten durch Zerreiben mit Quarzsand behandelt.
» 24 »	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	
» 2 » »	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Zusatz von je 1 Tropfen auf 80° erwärmt. Leukozyten. Vorbehandlung w. oben.
» 24 »	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	

Tabelle VII.

Serum . . . . Kochsalz	0,1 1,9	0,2 1,8	0,3 1,7	0,4 1,6	0,5 1,5	
Nach 2 St. Bruttemp	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Kontrolle
» 24 Stunden. .	0		i. H.	i. H.	i. H.	
» 2 St. Bruttemp.	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	Mit je 1 Tropfen Leukozytenbreis versetzt. Vorbehandlg. w. in Tab. VIII.
» 24 Stunden .	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	
» 2 St. Bruttemp.	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Leukozyten auf 60° C erwärmt.
» 24 Stunden. .	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	

Tabelle VIII.

Serum . . . . . Kochsalz	0,1 1,9	0,2 1,8	0,3 1,7	0,4 1,6	0,5 1,5	
Nach 2 Std. Bruttemp.	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Kontrolle
» 24 Stunden . .	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	
» 2 Std. Bruttemp.	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	Normale Leukozyten mit Quarzsand zerrieben.
» 24 Stunden . .	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	
» 2 Std. Bruttemp.	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Leukozyten auf 60° C erwärmt.
» 24 Stunden . .	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	i. H	
» 2 Std. Bruttemp.	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Leukozyten auf 80° C erwärmt.
» 24 Stunden . .	Kuppe	i H.	i. H.	i. H.	i. H.	

Der hemmende Körper ist inaktivierbar. Er wird sicher durch Temperaturen von 80° und ½ Stunde Einwirkung vernichtet. 60° und eine ½ stündige Einwirkung schädigen ihn schon im hohen Grade.

Durch mehrfaches Einfrieren und Wiederauftauen konnte ich allerdings in einem Falle (Tab. XI) die Schutzwirkung der antihämolytischen Körper im geringen Grade vermindern. Doch sind wir weit entfernt, aus diesem einen, mit den bisher bekannten Tatsachen nicht übereinstimmenden Versuche irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Der Versuch möge nur dartun, dafs auch mit toten Leukozyten eine Wirkung zu erzielen ist.

Tabelle XI.

Serum . . Kochsalz. .	0,1 1,9	0,2 1,8	0,3 1,7	0,4 1,6	0,5 1,5	0,6 1,4	1 1	
Am nächsten Tag	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i H	i. H.	c. H.	Kontrolle.
» » »	0	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	Mit je 1 Tropfen Leukozytenbrei versetzt.
» » »	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	Mit je 1 Tr. Leukozytenbreis versetzt, der 2mal z. Gefrier. u. Wiederauftauen gebracht wurde.

Dafs bei Zunahme der Leukozyten die Schutzwirkung eine gröfsere wird, zeigt deutlich die Tab. XII.

Tabelle XII.

Serum . . .	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	
Kochsalz . .	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	1,4	
Am nächsten Tag	0	Kuppe	i. H.	i. H.	i. H.	i. H.	Kontrolle.
» » »	0	0	0	Kuppe	i. H.	i. H.	Je 1 Tropfen Leukozyten.
» » »	0	0	0	0	i. H.	i. H.	Je 2 Tropfen Leukozyten.

Bei derselben wurden in eine Verdünnungsreihe 1 Tropfen, in die zweite 2 Tropfen Leukozytenbreies hineingegeben.

Während die Kontrollreihen schon bei 0,2 eine beginnende Hämolyse zeigen, tritt eine solche bei Zusatz eines Tropfens bei 0,4 und bei Zusatz von 2 Tropfen erst bei 0,5 ein. Auch in Tab. XIII zeigt sich ein ähnliches Verhalten. Aber auch hier sehen wir, dafs die Erwärmung der Leukozyten auf 60° die Schutzwirkung fast vollständig aufhebt.

Tabelle XIII.

Serum . . .	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	
Kochsalz . .	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	
Am nächsten Tag	Kuppe	i. H.	i H.	i. H.	c. H.	Kontrolle.
» » »	0	0	0	Kuppe	i. H.	Mit 2 Tropf. Leukozytenbreis
» » »	Kuppe	Kuppe	i. H.	i. H	c. H.	Desgl.; die Leukozyten wurden vorher auf 60° C erhitzt.

Fassen wir die Versuche zusammen, so ergibt sich die überraschende Tatsache, dafs die Leukozyten imstande sind, die globulizide Eigenschaft des eigenen Serums gegen Meerschweinchenerythrozyten bis zu einem gewissen Grade aufzuheben.

Diese Eigenschaft haftet sowohl den lebenden als den toten Leukozyten an und wird durch Erwärmen auf 60° C beträchtlich vermindert, durch Erhitzen auf 80° C aber vollständig aufgehoben. Wir müssen uns aber ferner fragen, ob diese Eigenschaft der Leukozyten für das Tier eine praktische Bedeutung hat. Sehen wir von dem gewifs seltenen Vorkommen einer Bluttransfusion ab, bei welchem die Leukozyten die Hämolyse der fremden Erythrozyten teilweise zu vermindern vermögen, so schei-

nen anderseits die Leukozyten eine bedeutsame Rolle in dem Falle zu spielen, wo es sich nicht um Serum-Hämolysine, sondern um die Neutralisation der Bakteriolysine handelt. Damit komme ich zu dem zweiten Teile meiner Untersuchung.

Wirkung der Leukozyten auf Staphylolysin.

Um die Leukozyten auf ihre antihämolytischen Eigenschaften zu prüfen, verwendete ich ausschliefslich Staphylolysin.

Dieses Lysin erhält man, wie nebst anderen Autoren, vor allen Neifser und Wechsberg (8) in ihrer grundlegenden Arbeit über Staphylolysin gezeigt haben, sehr leicht durch Einimpfen von geeigneten Kulturen von Staphylokokkus pyogenes aureus in Bouillon. Am 4.—6. Tage wurde die Bouillon durch einen Berkefeldfilter filtriert. Die Fähigkeit dieses Filtrates, die roten Blutkörperchen zu lösen, war eine ziemlich grofse. Noch in einer Verdünnung von 0,025 Lysin auf 1,975 NaCl-Lösung von 0,85% konnte ich eine komplette Lösung eines Tropfens Kaninchenerythrozyten erzielen. Die Leukozyten gewann ich in analoger Weise wie in den früheren Versuchen. Die Erythrozyten stammen meist von demselben Tiere, welches zur Leukozytengewinnung entblutet wurde. Es macht übrigens, wie ich mich durch Versuche überzeugen konnte, wenig Unterschied in der Wirkung der Leukozyten auf die Hämolyse aus, ob man rote und weifse Blutkörperchen von denselben oder von verschiedenen Tieren nimmt. Genau so wie in den früheren Versuchen stellte ich auch jetzt Reihen her, in denen die fallenden Mengen des Lysins durch Zusatz von 0,85 proz. NaCl-Lösung auf 2 ccm gebracht wurde.n Das Lysin verwendete ich ohne jeden Zusatz. Die Inaktivierung des Lysins gelang durch 3/4—1 stündiges Kochen im Wasserbade.

Der Versuch wurde hierauf in folgender Weise vorgenommen: Das Exsudat wurde nach Entbluten des Tieres steril aus der Brusthöhle entnommen und sofort, um eine Gerinnung zu vermeiden, mit doppelt so viel Kochsalzlösung verdünnt, hierauf zentrifugiert und die zu Boden gesenkten Leukozyten mehrmals

gewaschen, schliefslich die darüberstehende Flüssigkeit abpipetiert. Die Leukozyten, welche einen dünnflüssigen Brei darstellten, konnten nun direkt tropfenweise zugesetzt werden. Zur Verwendung gelangten also fast ausschliefslich lebende Leukozyten. Zwar konnte ich mich nicht überzeugen, dafs auch die durch starkes Zerreiben oder Gefrieren und Wiederauftauen getöteten Leukozyten eine grofse Wirksamkeit entfalteten, doch schien mir ihre antihämolytische Kraft lange nicht so sicher und prompt zu sein als wenn ich lebendes Material verwendete. Sonst blieb die Versuchsanordnung die gleiche wie in den früheren Versuchen. Auch hier wurden dem Lysingemenge zuerst die Leukozyten beigemengt und erst nach 2stündigem Verweilen bei 37° C je 1 Tropfen wiederholt gewaschener Kaninchenerythrozyten beigefügt. Die angeführten Resultate beziehen sich immer auf den nächstfolgenden Tag.

Tabelle XIV.

Lysin	Kontrolle	Mit 1 Tropfen Leukozyten	Mit 2 Tropfen Leukozyten
0,5	c. H.	c. H.	i. H.
0,4	c. H.	c. H.	i. H.
0,2	c. H.	c. H.	i. H.
0,1	c. H.	Kuppe	Kuppe
0,05	i. H.	Kuppe	Kuppe
0,025	i. H.	Kuppe 1/4	0
0,0125	i. H.	0	0
0,0062	i. H.	0	0
0,0031	Kuppe	0	0
0,0015	Kuppe	0	0
0,0007	0	0	0

Tabelle XV.

Lysin	Kontrolle	Mit 3 Tropfen Leukozyten
0,5	c. H.	i. H.
0,4	c. H.	i. H.
0,2	c. H.	i. H.
0,1	c. H.	Kuppe
0,05	c H.	0
0,025	i. H.	0
0,0125	i. H.	0
0,0062	Kuppe	0
0,0031	Kuppe	0
0,0015	0	0

Tab. XIV und XV zeigen in deutlicher Weise die antihämolytische Wirkung der Leukozyten. Die Versuche zeigen auch ferner, obwohl sie mit verschieden starkem Lysin und mit Erythrozyten verschiedener Hasen angestellt sind, dafs mit steigendem Leukozytengehalt auch die Schutzwirkung der Leukozyten in die

Höhe geht. Ich war imstande, mit 3 Tropfen Leukozyten die einfach komplett lösende Dosis Lc zu neutralisieren. Die Feststellung dieser beträchtlichen Schutzwirkung ist um so interessanter, als Neifser und Wechsberg am Schlusse ihrer Arbeit über das Staphylotoxin angeben, dafs ihnen durch Zugabe von Leukozyten zum Staphylotoxin allerdings gelungen ist, das Leukocidin zum Verschwinden zu bringen, dagegen konnten sie nie eine stärkere Abnahme des Hämolysins konstatieren. Ein geringgradiges Verschwinden führen beide Autoren auf die Anwesenheit von Erythrozyten in dem Leukozytenexsudat und auf Bindung dieser Erythrozyten mit Hämolysin zurück.

Ich glaube, dafs bei meiner Anordnung der Versuche, eine Bindung des Hämolysins mit den Erythrozyten sich eben durch Hämolyse kundgegeben hätte. Ich konnte aber immer konstatieren, dafs die Röhrchen nach Zusatz von Leukozyten wenigstens für das unbewaffnete Auge vollständig farblos blieben. Die Erythrozyten, welche in dem Exsudat vorhanden waren, wurden entweder durch die Antistoffe an der Lösung verhindert oder waren in so geringen Mengen vorhanden, dafs keine auffallende Rotfärbung entstehen konnte. Die geringfügige Bindung des Lysins, welche dadurch entstand, ist gewifs für den Versuch ohne Bedeutung.

Dagegen konnte man sich vorstellen, dafs durch die Anwesenheit von Leukozidin die Leukozyten eine Schwächung erfahren haben, indem sie durch das Leukozidin geschädigt und demnach bei der Bindung des Hämolysins gehindert würden. Obwohl nun Bail (5) gerade durch das Leukozidin Alexine aus den Leukozyten gewinnen konnte, so versuchte ich dennoch zuerst das Leukozidin durch Leukozytenzusatz auszuschalten in der Hoffnung, durch dieses Verfahren eine bessere Ausnutzung der antihämolytischen Schutzstoffe der Leukozyten zu erlangen. Bei diesen Versuchen kam es im wesentlichen darauf an, gerade so viele Leukozyten hinzuzusetzen, dafs das Leukozidin eben gebunden wurde. Da die Leukozyten durch Bindung mit Leukozidin zugrunde gehen, so war der Moment der Neutralisation in dem Auftreten von Lebensvorgängen in den Leukozyten

kenntlich. Zur Prüfung dieser Lebensfähigkeit verwendete ich die von Neifser und Wechsberg angegebene bioskopische Methode.

Aus bestimmten Gründen ging ich etwas anders vor als die genannten Autoren. Ich verwendete in Kochsalzlösung gewaschene Leukozyten und nicht das mit 1proz., Lösung von oxalsaurem Natron vermengte leukozytenhaltige Exsudat.

Zuerst bestimmte ich mir die Dosis minima reducens, d. i. jene geringste Menge von Leukozyten, welche eben noch hinreicht, um nach 2stündigem Verweilen im Thermostaten eine Reduktion von 2 Tropfen der von den genannten Autoren angegebenen Methylenblaulösung hervorzurufen.

Ich verwendete zu diesen Versuchen Röhrchen von 0,7 cm lichter Weite in welche ich 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung und verschiedene Mengen von Leukozyten nebst 2 Tropfen von Methylenblaulösung hineinbrachte und mit Paraphinum liquidum überschichtete.

Ich fand nun nach wiederholter Prüfung, dafs ca. 0,025 g Leukozytenbreies genügten, um die von Neifser und Wechsberg geforderte Reduktion einer $^1/_2$-Röhre zu ermöglichen. Lr war also = 0,025 ccm.

Nun nahm ich abfallende Mengen von Lysin, gab überall die doppelte Dosis dazu; das war in meinem Falle = 0,05 ccm Leukozytenbreies und füllte die Röhrchen auf 2 ccm Gesamtflüssigkeit auf. Erst nach 2stündigem Verweilen im Brutschrank wurden 2 Tropfen der Methylenblaulösung hinzugesetzt und mit Paraffin überschichtet. Dabei fand ich, dafs z. B. in den Röhrchen mit 0,1 ccm Lysin eben noch eine deutliche Reduktion zu sehen war, während bei 0,2 ccm Lysin keine Reduktion mehr auftrat. Ich hatte nun die Möglichkeit, durch Zusatz einer bestimmten Tropfenzahl ein beliebiges Quantum von Lysin zu neutralisieren. Bei dem nun folgenden Versuche wurde nun tatsächlich eine bestimmte Menge von Lysin durch Leukozytenzusatz neutralisiert, das Gemenge hierauf zentrifugiert und das von Leukozidin befreite Lysin abpipetiert und in gleicher Weise

zu den hämolytischen Versuchen verwendet wie das nicht neutralisierte.

Tabelle XVI.

Lysin	Kontrolle	2 Tropfen Leukozyten	2 Tropfen Leukozyten nach Ausschaltung d. Leukozidins
0,4	c H.	i. H.	i. H.
0,2	c. H.	i. H.	i. H.
0,1	c. H.	i H.	0
0,05	c. H.	Kuppe	0
0,025	i. H.	0	0
0,0125	i. H.	0	0
0,0062	Kuppe	0	0
0,0031	Kuppe	0	0

Man sieht nun tatsächlich, dafs 2 Tropfen Leukozyten in dem nicht neutralisierten Lysin eine totale Bindung von 0,025 ccm Lysin vermögen, während das gleiche Volumen Leukozyten in dem von Leukozidin befreiten Lysin eine Bindung von 0,1 ccm Lysin ermöglicht. Diese Steigerung der antihämolytischen Kraft scheint mir aber darauf zu beruhen, dafs die Leukozyten gelegentlich der Bildung mit Leukozidin bereits Hämolysin abgegeben haben, welches durch das erneuerte Hinzufügen von Leukozyten noch vermehrt wurde. Das Leukozidin scheint demnach die hämolytische Wirkung nicht zu beeinflussen. Schliefslich untersuchte ich die Organe der Kaninchen auf ihre antihämolytischen Eigenschaften. Ich verwendete dazu kleine Organstücke aus entbluteten Tieren, welche ich in reiner physiologischer Kochsalzlösung gründlich auswusch. Hierauf wurden die Organstückchen zerkleinert und mit Quarzsand zu einem dünnen Brei verrieben, welcher tropfenweise zugesetzt wurde. Zur Verwendung gelangte Leber, Milz und Niere. Der Zusatz des Organbreies erfolgt parallel mit dem Zusatz von Leukozyten in der früher beschriebenen Weise. Von den Organen liefs allein die Milz geringe antihämolytische Eigenschaften erkennen, welche jedoch verschwindend klein im Verhältnis zu der Schutzwirkung der Leukozyten genannt werden müssen.

Fassen wir die Resultate zusammen, so können wir auf Grund unserer Ergebnisse in vitro behaupten, dafs die Leukozyten und vor allem die lebenden imstande sind, die hämolytische Komponente des Staphylotoxins in gewissem Grade zu neutralisieren. Bei 60° C ist das Vermögen der Leukozyten, das Hämolysin zu binden, entschieden geschwächt und bei 80° C vollständig aufgehoben.

Literatur.

1. Metschnikoff: Zur Lehre von den Phagozyten und deren experimentellen Grundlagen. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 4.
2. Hankin: Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 12 und 14.
3. Hahn: Beziehung der Leukozyten zur bakteriziden Wirkung des Blutes. Archiv f. Hygiene. Bd. 25. 1895.
4. Van de Velde: Beziehungen zwischen den bakteriziden Eigenschaften des Serums und der Leukozyten. Zentralbl. f. Bakter. Bd. 23. 1898.
5. Beil: Über die leukozide Substanz in den Stoffwechselprodukten des Staphylococcus pyogenes aureus. Archiv für Hyg. Bd. 30.
6. Schattenfroh: Über bakterienfeindliche Eigenschaften der Leukozyten. Archiv f. Hyg. Bd. 31 und 35.
7. Neifser und Wechsberg: Über eine neue, einfache Methode zur Beobachtung von Schädigung lebender Zellen und Organismen. (Bioskopie.) Münchener med. Wochenschr. 1900, Nr. 37.
8. Dieselben: Über das Staphylotoxin. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36.

Die relative Photometrie.[1])

Methode zur Charakterisierung und Messung der Tageslichtbeleuchtung in Arbeits- und Wohnräumen.

Von

Dr. Stanislav Růžička.

(Aus dem k. k. hygienischen Institut des Prof. Dr. Gustav Kabrhel in Prag.)

I. Teil.[2])

Das Prinzip der relativen Photometrie.

Die Versorgung der Arbeitsplätze mit einer genügenden Menge Tageslicht ist ein ebenso schwieriges wie wichtiges Problem der praktischen Hygiene, insbesondere der Schulhygiene.

In solchen Fällen, wo man seinen Arbeitstisch im Zimmer nach Belieben ans Fenster rücken kann, macht es wohl selten Schwierigkeiten die genügende Lichtmenge in das Arbeitsfeld zu bekommen.

Aber in Schulzimmern, Nähzimmern, Zeichensälen, gröfseren gewerblichen Arbeitslokalen (Schriftsetzereien u. a.) mit einer grofsen Zahl von Arbeitsplätzen hat man oft recht grofsen Mangel an Licht, wenigstens an Arbeitsplätzen, welche von der Fensterwand am weitesten entfernt sind.

Die Oberlichtbeleuchtung, welche immer reichlich genügende Lichtfülle bietet, bringt fast unüberwindliche finanzielle und technische Schwierigkeiten mit sich, so dafs man bis auf seltene

1) Als IV. Teil meiner Studien zur relativen Photometrie (Archiv für Hygiene, Bd. XLIII, LI, LIV).

2) Der böhm. Kaiser-Franz-Josephs-Akademie vorgelegt am 18. April 1907.

Ausnahmen — wenigstens in der Schule — auf das Seitenlicht verwiesen ist.

Beim Seitenlicht aber sinkt die Beleuchtungsstärke der Arbeitsplätze mit ihrer Entfernung vom Fenster soweit, dafs die für die Praxis wichtige Frage entsteht, unter welchen Umständen sie bis an die Grenze des Zulässigen anlangt.

Die Beantwortung dieser Frage ist aber sehr schwierig und kompliziert; und zwar besonders aus dem Grunde, weil einige die Intensität der Tagesbeleuchtung von Arbeitsplätzen bestimmende grundwichtige Momente in einer der menschlichen Beeinflussung unzugänglichen Weise veränderlich sind.

Im Grunde genommen mufs die Frage beim Taglicht ebenso gestellt werden wie bei der künstlichen Beleuchtung. Wie soll es angeordnet werden, dafs der schlechteste Arbeitsplatz die minimale genügende Lichtmenge garantiert hat?

Beim künstlichen Lichte ist die Lösung ziemlich einfach. Es wird eine Lichtquelle von bestimmter Lichtintensität in einer solchen (leicht zu berechnenden) Entfernung von der Arbeitsfläche aufgestellt, bei welcher die Belichtungsintensität (das von der Decke, den Wänden usw. reflektierte Licht eingerechnet) eben die geforderte ist.

Da man die Lichtintensität der Lichtquelle, ihre Entfernung von der Arbeitsfläche, sowie den Einfallwinkel, die Reflexion des Lichtes von den Wänden, der Decke usw. (Farbe des Anstriches) in der Hand hat, kann man durch die künstliche Beleuchtung eine bestimmte Lichtintensität am Arbeitsplatze erreichen.

Beim Tageslicht ist die primäre direkte Lichtquelle für unsere Arbeitsplätze das leuchtende Himmelsgewölbe. (Das direkte Sonnenlicht kann schon wegen seiner zu grofsen Intensität nicht verwendet werden.)

Die Intensität dieser primären direkten Tageslichtquelle ist aber bekanntlich eine sehr schwankende, wozu ich durch meine vor zwei Jahren in Prag während der dunkelsten Jahreszeit täglich um 9 Uhr vormittags und 3 Uhr nachmittags ausge-

führten photometrischen Messungen[1]) zahlenmäfsiges Material geliefert habe.

Die Messungen haben ergeben, dafs die Lichtintensität des Himmelsgewölbes, innerhalb der Zeit vom 24. November bis 1. Februar (um 9 Uhr vorm. und 3 Uhr nachm.) Schwankungen von 30 bis 8257 Meterkerzen zeigte; und, wenn man von seltenen Ausschlägen nach beiden Extremen absieht, doch noch als regelmäfsige Erscheinung Werte zwischen 1000 bis 4000 und 5000 Meterkerzen aufweist.

Bei solchen grofsen, der menschlichen Beeinflussung unzugänglichen Schwankungen der primären Lichtquelle kann der Hygieniker nichts anderes tun, als sich auf die schlechtesten Verhältnisse — nämlich auf die geringste Intensität der primären Lichtquelle — einrichten.

Da ich aber Werte unterhalb 2000 Meterkerzen (Lichtintensität des Himmelsgewölbes) nur in einem ganz beschränkten Jahresteile (fast nur im Dezember, von welchem für die Schulen noch die Weihnachtsferien entfallen) gefunden habe, so habe ich vorläufig vorgeschlagen, in der Schulhygiene mit diesem Werte als dem minimalen zu rechnen, und an den dunklen Dezembertagen sich mit künstlicher Beleuchtung auszuhelfen. (Dieses praktische Resultat meiner Messungen des Himmelsgewölbes finde ich durch die im letzten Winter ebenso ausgeführten Messungen — siehe den Anhang am Ende dieser Arbeit — bestätigt.)

Also die Frage steht jetzt so: Wie sind die baulichen Einrichtungen und die übrige Einrichtung des Schulzimmers zu treffen, damit bei 2000 Meterkerzen Lichtintensität des Himmelsgewölbes auch der dunkelste Arbeitsplatz noch die genügende Lichtmenge erhält, als welche 20 bis 25 Meterkerzen angenommen werden.

Durch die baulichen Einrichtungen (Gröfse der Fenster, ihre Höhe, Entfernung und Höhe des gegenüberliegenden Gebäudes, Farbe des gegenüberliegenden Gebäudes, Entfernung des betreffenden Arbeitsplatzes von der Fensterwand, Farbe der Decke

1) Archiv f. Hygiene, Bd. LIV, S. 32.

und der Wände des Schulzimmers) wird nämlich die auf einen bestimmten Arbeitsplatz gelangende Lichtmenge, wie schon die grobe Erfahrung zeigt, wesentlich beeinflufst. Die baulichen Momente aber sind eben jene zweite Gruppe von Komponenten der Belichtungsintensität der Arbeitsplätze, welche man beim Bau und bei der Verwaltung der Schule vollkommen in der Hand hat. Höchstens mit Ausnahme der Verhältnisse des gegenüberliegenden Hauses; eventuell mufs man also auch bei diesem zweiten unbeeinflufsbaren Moment mit den ungünstigsten Werten — einer tiefgrauen Farbe, der gröfsten zulässigen Höhe, der kleinsten zulässigen Entfernung usw. — rechnen. Auch die Farbe der Strafsenoberfläche mufs eventuell in dem ungünstigsten Werte in die Rechnung gezogen werden (als tiefgraue).

(Zahlenmäfsige Belege über die Bedeutung dieser verschiedenen Momente für die Lichtintensität der Arbeitsplätze sind im zweiten Teile dieser Arbeit enthalten.)

Um den Einflufs der baulichen Einrichtungen auf die Lichtstärke der Arbeitsplätze exakt studieren zu können, habe ich meine relativ photometrische Methode konstruiert.

Ich bin von dem Gedanken ausgegangen, dafs — ein vollkommen gleichmäfsig diffus leuchtendes Himmelsgewölbe vorausgesetzt — unter bestimmten gegebenen Bauverhältnissen und Verhältnissen der Zimmereinrichtung die Lichtintensität eines Arbeitsplatzes einen ganz bestimmten Teil von der Lichtintensität des Himmelsgewölbes beträgt, obschon die absolute Intensität des Himmelsgewölbes eine grofse oder eine kleine ist.

Dieser Schlufs erscheint schon auf Grund der bekannten physikalischen Gesetze als ein zwingender, wenn wir uns genau vorstellen, wie das auf einen Arbeitsplatz auffallende Licht herkommt:

Ein Teil des Lichtes kommt direkt von einem durch die Bauverhältnisse bestimmt gegebenen Teile, resp. von mehreren Teilen bei mehreren Fenstern des Himmelsgewölbes; ein anderer Teil ist das von dem gegenüberliegenden Gebäude, von der Zimmerdecke, den Zimmerwänden usw. reflektierte Licht. Da

die reflektierenden Flächen je nach der gegebenen Farbe einen ganz bestimmten Teil des auffallenden Lichtes reflektieren, so sind auch diese Verhältnisse — ohne Rücksicht auf die absolute Lichtmenge — ganz konstante.

Also z. B. ein bestimmter Arbeitsplatz hat unter bestimmten Bauverhältnissen eine solche absolute Lichtintensität, welche einem Prozent der gleichzeitigen absoluten Lichtintensität des Himmelsgewölbes gleich ist, also bei der »minimalen zulässigen« Helligkeit des Himmelsgewölbes (2000 Meterkerzen) hat der Platz 20 Meterkerzen, steigt die Helligkeit des Himmelsgewölbes auf 4000 Meterkerzen, so hat er 40 Meterkerzen usw.

Die Richtigkeit des oben angeführten Schlusses wird auch durch die praktische Erfahrung bei der Benützung meiner Methode jeden Augenblick erhärtet. (Schwankungen der Tageslichtintensität haben keinen Einflufs auf das Lichtverhältnis der in meinem Photometer auf Gleichheit eingestellten beiden Felder: Arbeitsplatz und Himmelsgewölbe.)

Die Kenntnis dieses Prozentverhältnisses für einen Arbeitsplatz im Zusammenhang mit der Kenntnis der konventionellen minimalen Lichtintensität des Himmelsgewölbes, ergibt direkt die absolute Zahl Meterkerzen, bis zu welcher die Lichtintensität des betreffenden Arbeitsplatzes innerhalb der ungünstigen praktisch zu berücksichtigenden Verhältnisse sinkt.

An dieser Stelle ist noch der Einwand zu besprechen, dafs die relative Photometrie nur für den Fall Geltung hat, wenn das Himmelsgewölbe vollkommen gleichmäfsig diffus leuchtet und für die weitaus meisten Fälle der Praxis ohne Geltung ist.

In der Tat führe ich die Bestimmung eben nur bei vollkommen gleichmäfsig diffus leuchtendem Himmelsgewölbe aus; und ohne jeden Zweifel ist, wie man sich leicht übrigens auch überzeugen kann, bei ungleichmäfsig bedecktem Himmel das Verhältnis (zwischen der Lichtintensität des Arbeitsplatzes und derjenigen des Zenitpunktes) ein begreiflicherweise oft recht

weit abweichendes und sehr schwankendes, so dafs es keineswegs zur Charakterisierung des Platzes dienen kann.

Aber für den praktischen Zweck, um welchen es sich handelt, sind wir vollkommen zufrieden, wenn wir eine Methode haben, welche uns einen verläfslichen Anhaltspunkt zur Charakterisierung der Tageslichtbeleuchtung unter den ungünstigsten Verhältnissen gibt; an den ungüstigen nebligen Tagen ist eben das Himmelsgewölbe recht gleichmäfsig bedeckt.

Es darf nicht vergessen werden, dafs die ganze Methode eben auf dem Grundgedanken ausgearbeitet ist, dafs sie die Frage beantworten soll: bis zu welchem Werte sinkt die absolute Lichtintensität am betreffenden Arbeitsplatze **im ungünstigsten Momente.**

Beschreibung des von mir für die Zwecke der relativen Photometrie konstruierten Apparates „Der relative Photometer“.

Zur Ausführung der relativ photometrischen Bestimmungen habe ich auf Grund des von mir in meiner früheren Publikation[1]) schon angegebenen Prinzips einen Apparat konstruiert, in welchem dem Auge des Beobachters das Spiegelbild des auszumessenden Arbeitsplatzes (welcher vorher mit einem Blatt rein weifsen Papiers belegt wird) als Fleck in der Mitte eines Spiegelbildes des Zenitteiles des Himmelsgewölbes erscheint, Die einzige Abweichung von der oben zitierten Beschreibung beruht darin, dafs das Bild des Arbeitsplatzes (anstatt von einem Spiegel) von einem Lummer-Brodhunschen Würfel reflektiert wird.

Das Bild des Himmelsgewölbes (welches natürlich immer vielmal heller ist als das Bild des Arbeitsplatzes) kann durch einen mittels Trieb (Knopf *Kn*) verschiebbaren Rauchglasdoppelkeil beliebig[2]) abgedämpft werden; also auch auf eine mit dem Arbeitsplatze gleiche Intensität, wobei dann das Bild des Arbeitsplatzes in demjenigen des Himmelsgewölbes verschwimmt.

1) Archiv für Hygiene, Bd. LIV, S. 38 u. 39.

2) Bei meinem Exemplar des relativen Photometers auf 4,00—0,36 % der wirklichen Intensität.

Die augenblickliche Einstellung des Rauchglaskeiles kann an einer Millimeterskala abgelesen werden und aus einer beigefügten Tabelle liest man heraus, auf wieviel Prozent der wirklichen Lichtstärke das Bild des Himmelsgewölbes durch die betreffende Einstellung verdunkelt ist: also wieviel Prozent von der wirklichen augenblicklichen Lichtintensität des Himmelsgewölbes die augenblickliche Lichtintensität des Arbeitsplatzes ausmacht.

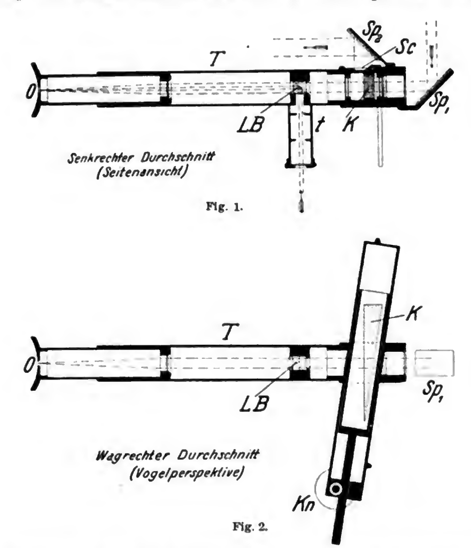


Fig. 1.

Fig. 2.

Erklärung der in die Zeichnungen eingetragenen Buchstaben.

T = grofser Tubus.
t = kleiner Tubus.
K = Rauchglaskeil.
Sp_1 = Spiegel, welcher in das Auge des Beobachters das Bild des Himmelsgewölbes reflektiert.
Sp_2 = Spiegel, in welchem das — vor dem Okular befindliche — Auge des Beobachters die Skala *Sc* sieht.
Kn = Knopf, dessen Drehen Verschiebung des Rauchglaskeiles *K* bewirkt.

Die Peripherie des unteren Endes des kleinen Tubus *t* ist mit vier die Peripherie genau in Quadranten teilenden Einkerbungen versehen.

Der Lummer-Brodhunsche Würfel befindet sich innerhalb des grofsen Tubus *T* über der Ansatzstelle des kleinen Tubus *t* an den grofsen *T*.

Den Apparat hat mir nach meinen Angaben die Firma F. Schmidt & Haensch, optisch-mechanische Werkstätte in Berlin, in ganz dankenswerter Weise konstruiert.[1])

Ausführung der relativ photometrischen Bestimmungen.

Die relativ photometrischen Messungen werden immer am Modell ausgeführt, obschon das betreffende Gebäude erst gebaut werden soll, oder schon fertig dasteht.

Es liegt darin wohl ein nicht geringer Vorteil der Methode, dafs die Bestimmungen auch für ein erst zu erbauendes Gebäude — an einem nach den Plänen leicht herzustellenden kleinen Modell — ausgeführt werden können, da es so leicht möglich ist, die Pläne soweit entsprechend abzuändern, bis der erforderliche Grad der Lichtfülle erreicht ist.

An einem fertigen Gebäude selbst ist zwar die Ausführung einer solchen Messung theoretisch auch möglich, aber praktisch sehr schwer durchzuführen. Und zwar aus zwei Gründen:

1. Das Bild des Zenitpunktes des Himmelsgewölbes müfste durch einen von dem Auge des Beobachters mehrere Meter (etwa 3—7)[2]) entfernten Spiegel reflektiert werden. Bei Verwendung eines mathematisch genau planen Spiegels würde dabei kein Fehler entstehen; aber praktisch ist ein solcher nicht zu bekommen. Selbst die genauesten präzisen Planspiegel, welche

1) Die Firma liefert solche Apparate zu einem Preise von etwa 220 M. Aufserdem verfertigt die Firma auf meine Veranlassung auch relative Photometer, welche unveränderlich auf eine bestimmte Absorption (ohne verschiebbaren Keil) — 1 % durchgehenden Lichtes — eingestellt sind, etwa zu 120 M. Dies für solche Fälle, wo es sich nur darum handeln würde, zu entscheiden, ob die auszumessenden Plätze der Minimalforderung genügen oder nicht.

2) Je nachdem, ob es sich um einen der Fensterwand nahen oder von ihr entfernten Platz handelt.

ungeheuer teuer sind, sind nur bis zu einer Fehlergrenze garantiert, bei welcher doch noch — bei der grofsen Entfernung — ein nicht zu vernachlässigender Fehler entstehen würde (eine Konzentration oder wieder Dispersion der Strahlen: Verstärkung oder Abschwächung der wirklichen Intensität).

2. Es ist praktisch sehr schwer möglich, zum Zwecke einer solchen Bestimmung eben einen nebligen Tag mit genau gleichmäfsig leuchtendem Himmelsgewölbe abzuwarten. Ich benütze, wie ich im weiteren genauer angeben werde, ein künstliches »Himmelsgewölbe«, dessen Gleichmäfsigkeit an jedem beliebigen Tage zu erreichen ist.

Mein künstliches Himmelsgewölbe ist auf folgende Art konstruiert:

Eine 50 cm hohe, 80 cm lange und 70 cm breite (innere Mafse) Holzkiste hat anstatt der oberen (Decken-) Wand zwei aufeinanderliegende Glasplatten, zwischen welchen ein Blatt homogenen weifsen Papiers liegt. Die Glasplatten sind nur dazu da, das Papierblatt in seiner Lage zu halten und es vor Beschmutzung zu schützen.

Da in der Regel aber in der Praxis der die Schule beleuchtende Teil des Himmelsgewölbes einen sehr langen Streifen — der Länge der Gasse entsprechend — darstellt, die Kiste aber praktisch entsprechend lang nicht konstruiert werden kann, habe ich mein Himmelsgewölbe nur 26,67 m[1]) lang gemacht, und es — durch Bedeckung der beiden kurzen Seitenwände der Kiste mit geschliffenen Spiegeln — auf beiden Seiten optisch ins unendliche verlängert. (Dadurch wird natürlich der kleine Fehler eingeführt, dafs die Spiegelbilder des Himmelsgewölbes je entfernter desto dunkler — infolge der fortschreitend sich wiederholenden Reflexion — werden, aber dieser Fehler wird erst bei den entfernteren Spiegelbildern ein bedeutenderer, welche für die Beleuchtung der Schule schon wenig in Betracht kommen. Wenn wir uns übrigens um den Erdball herum ein gleichmäfsig

1) Die Kiste ist 80 cm lang, was 26,67 m in der Wirklichkeit entspricht. Die Modelle mache ich nämlich so grofs, dafs ein Meter des wirklichen Mafses durch 3 cm dargestellt wird.

leuchtendes Himmelsgewölbe denken, so mufs — besonders bei bedeutender vernebelter Atmosphäre — an jedem Punkte der Erdoberfläche der Zenitteil des Himmelsgewölbes lichter erscheinen und gegen den Horizont die Lichtintensität abnehmen.

Die eine, längere, Seitenwand der Kiste (50 · 80 cm) ist nicht ausgeführt, bleibt leer und bietet dem Experimentator Zutritt in das Innere der Kiste.

Die Kiste wird nämlich bei den Messungen auf einen Tisch von gewöhnlicher Höhe gestellt, so dafs die Glasfläche nach oben gekehrt ist, und der Experimentator setzt sich zum Tisch an derjenigen Seite, an welcher die Seitenwand fehlt. Seinen Oberkörper samt dem Haupte hüllt der Experimentator in ein möglichst lichtdichtes Tuch ein, dessen oberer Rand und die beiden Seitenränder an den oberen Rand und die Seitenränder der durch das Fehlen der einen Seitenwand der Kiste entstandenen Öffnung[1]) geheftet ist.

Dadurch wird es erreicht, dafs beim Experimentieren im Inneren der Kiste nur das von dem künstlichen Himmelsgewölbe kommende Licht zur Geltung kommt. Übrigens wird auch das Modell des auszumessenden Gebäudes in dieser Öffnung aufgestellt (die Öffnung wird durch dasselbe in der Regel fast vollkommen verstellt), so dafs auch durch dieses unbefugte Lichtstrahlen abgehalten werden.

Die der Öffnung gegenüberliegende Wand repräsentiert in den Versuchen das gegenüberliegende Gebäude (16,67 m hoch, dreistöckiges Wohngebäude). Bei Aufstellung eines falschen Bodens oberhalb des wirklichen in der Kiste, oder bei Herstellung des auszumessenden Modells in entsprechend gröfseren Mafsen, kann man dieselbe Wand als eine niedrigere benützen.

Will man die »Gasse« abgeschlossen haben, so belegt man den einen Seitenspiegel mit einem Papierblatt usw., welches die gewünschte Abschlufswand möglichst nachahmt. Natürlich spiegelt sich dieselbe auf der anderen Seite in einer Entfernung,

1) Diese Öffnung werde ich im folgenden einfach als Öffnung der Kiste oder Öffnung kurzweg bezeichnen.

welche der doppelten Länge der Kiste entspricht (so dafs in dieser Entfernung — 53 · 33 m — die Gasse auch auf der anderen Seite abgeschlossen ist).

Die Kiste — das »Himmelsgewölbe« — mufs von oben intensiv und gleichmäfsig beleuchtet sein. Dies wird am einfachsten und am besten durch Aufstellung der Kiste unter freiem Himmel erreicht; wenn kein vollkommen freier Raum verfügbar ist, z. B. in der Mitte[1]) eines gröfseren von womöglich gleichhohen Wänden umgebenen Hofes. — Durch künstliches Licht ist eine hohe Intensität und Gleichmäfsigkeit nicht so einfach zu erreichen.

Endlich ist noch die Frage zu besprechen, wie hoch eigentlich das künstliche Himmelsgewölbe oberhalb der Bodenfläche angebracht werden soll.

Die Höhe des wirklichen Himmelsgewölbes oberhalb der Erdoberfläche ist eine sehr verschiedene. Denn das Himmelsgewölbe wird durch die Wolken und Nebelmassen gebildet, welche zuweilen Tausende von Metern hoch schweben, ein anderes Mal aber sich in der nächsten Nähe der Erdoberfläche befinden.

Man könnte unter solchen Umständen glauben, dafs die augenblickliche Belichtungsintensität eines bestimmten Arbeitsplatzes nicht nur von der augenblicklichen Lichtintensität des Himmelsgewölbes, sondern auch von der Höhe (-Entfernung) des letzteren abhängig ist. Dies würde wirklich so sein, wenn das Himmelsgewölbe eine Lichtquelle von beschränkter Ausdehnung (z. B. eine punktförmige Lichtquelle) wäre.

Es gilt dies auch in der Tat für die partiellen Lichtintensitäten, welche von den einzelnen Punkten des Himmelsgewölbes auf einen bestimmten Arbeitsplatz im Schulzimmer kommen: Steht das Himmelsgewölbe zweimal so hoch, so ist die von

---

1) Ausdrücklich mufs ich davor warnen, solche Untersuchungen z. B. auf einem Balkon vornehmen zu wollen, wobei das künstliche Himmelsgewölbe mit dem einen Rande fast an das Haus anstöfst, der gegenüber liegende Rand aber von dem gegenüberliegenden Gebäude weit entfernt ist.

einem einzelnen Punkte des Himmelsgewölbes auf den Arbeitsplatz gelangende Lichtintensität eine viermal kleinere. Aber dafür kommt wieder in den Bereich des betreffenden Arbeitsplatzes bei einer zweifachen Entfernung des Himmelsgewölbes ein viermal so grofser Flächenanteil des Himmelsgewölbes, also viermal so viele leuchtende Punkte. Also die Abnahme der von jedem einzelnen leuchtenden Punkte kommenden Lichtintensität wird durch die Zunahme der Anzahl der leuchtenden Punkte genau kompensiert.

Bei meiner Versuchsanordnung ist also das Himmelsgewölbe möglichst niedrig angebracht, in direktem Anschlufs an die Oberkante des »gegenüberliegenden Gebäudes«, wie es übrigens unserem Auge perspektivisch in allen Fällen erscheint.

Von der Richtigkeit der eben dargestellten Analyse zeugt übrigens auch das Experimentum crucis.

Stellt man meinen Photometer bei gleichmäfsig diffus leuchtendem Himmelsgewölbe in meiner Kiste — welche aber des künstlichen Himmelsgewölbes entblöfst ist — auf einen Schülerplatz in einem Schulklassenmodell genau ein (auf Intensitätsgleichheit der beiden Felder), und setzt dann ohne jedwede sonstige Veränderung das künstliche Himmelsgewölbe auf, so sieht man im Photometer, dafs keine Veränderung des Verhältnisses der beiden Intensitäten eingetreten ist.[1])

Ich brauche nicht besonders auszuführen, dafs für spezielle Fälle — wie z. B. für den Fall eines ganz freien Horizontes vor der Schule — die oben beschriebene Anordnung unbrauchbar wäre. In dem angeführten Falle z. B. müfste man das Himmels-

1) Nur mufs man natürlich dafür sorgen, dafs wirklich keine andere Veränderung eintritt als die Annäherung des Himmelsgewölbes (natürlich auch Abschwächung seiner absoluten Lichtintensität, welche aber auch auf die Resultate der relativ photometrischen Messung keinen Einflufs hat). Es dürfen sich bei abgenommenem künstlichem Himmelsgewölbe z. B. keine Häuser anstatt des Himmelsgewölbes in den Spiegeln spiegeln. Genau ist der Versuch nur an einem so freien Platze auszuführen, dafs kein Gegenstand den Rand der Kiste überragt. Dafs das Himmelsgewölbe möglichst vollkommen gleichmäfsig leuchten mufs, versteht sich von selbst.

gewölbe darstellende Papierblatt schief zum Horizont absteigend konstruieren.

Diese Fälle sind aber — als besonders günstige — für die Praxis wenig wichtig.

Das Modell des auszumessenden Hauses mufs nicht vollkommen ausgeführt werden. Bei einem Schulhause z. B. genügt es, oft nur ein Klassenmodell (wenn alle Klassen gleich sind) in der Form eines Kistchens herzustellen, welchem in entsprechender Weise ein Brettchen angefügt wird, welches die Frontwand des Schulhauses darstellt. Das Klassenmodell kann als eine Parterreklasse untersucht werden und mit entsprechender Unterlage dann auch als Stockwerksklasse fungieren.

Um die dunklen Fenster an den Frontwänden und die beabsichtigte Farbe des Anstrichs der Frontwände darzustellen, verfahre ich so, dafs ich in einem. der Form der Frontwand entsprechend zugeschnittenen Papierblatte von der beabsichtigten Farbe die Fensteröffnungen ausschneide und das Papierblatt, mit einem dunkelgrauen Papierblatte unterlegt, auf die Frontwand aufspanne.

Die Herstellung des Zimmermodells siehe unten bei der Beschreibung der Experimente über schulhygienische Fragen der Tageslichtbeleuchtung.

Die Handhabung des relativen Photometers bei der Ausführung der Messungen.

Will man die relativ photometrischen Werte z. B. für eine Reihe von Schülerplätzen bestimmen, so bezeichnet man sich auf der oberen Fläche der Decke des Klassenmodells Punkte, welche genau senkrecht über den Mittelpunkten der fraglichen Arbeitsplätze liegen; und zwar als Schnittpunkte zweier senkrecht sich schneidenden Geraden (ausführlicher siehe unten S. 55). Von diesen Punkten aus, als Mittelpunkten, wird je ein rundes Loch (Durchmesser etwa 1 cm) ausgebohrt.

Der Photometer wird auf die Decke des Zimmermodells so aufgestellt, dafs sein Okularende dem Experimentator zugekehrt

und das Spiegelende von ihm abgekehrt ist, die Öffnung des kleinen Tubus über dem dem augenblicklich zu messenden Platze entsprechenden Loche in der Decke sich so eingestellt befindet, dafs die beiden in der Mitte des Loches sich schneidenden Linien mit den Einkerbungen der Peripherie des kleinen Tubus zusammenfallen. Ist das Deckenbrettchen genau horizontal, so spiegelt sich dem Auge des Beobachters in dem Apparate bei solcher Aufstellung genau der Mittelpunkt des zu messenden Arbeitsplatzes.

Mittels des Triebes *Kn* wird nun jene Stellung des Rauchglaskeiles ausgesucht, bei welcher die beiden Felder im Apparate genau gleiche Lichtintensität haben.

Dieser Punkt ist nicht immer auf direktem Wege ganz haarscharf zu bestimmen, besonders wenn die beiden verglichenen Felder nicht genau gleichfarbig sind.

[Dies kommt sehr oft vor. Das »Himmelsgewölbe« ist zwar rein weifs, aber das von demselben auf einen Arbeitsplatz nach einer oder mehreren Reflexionen gelangende Licht kann infolge teilweiser Absorption durch anders als weifsfarbige Flächen farbig sein, und ist es oft auch in ganz intensivem Grade. Dies kann man eben bei den relativ photometrischen Bestimmungen, bei welchen dem Auge das Bild des Arbeitsplatzes genau neben dem auf gleiche Intensität abgedämpften Bilde des Himmelsgewölbes erscheint, sehr schön sehen: z. B. bei ganz lichtgelben Wänden des Schulzimmers erscheint im Photometer das Bild des Arbeitsfeldes, obwohl auf demselben auch reinweifses Papier liegt, ganz deutlich gelb im Vergleich zu dem es umgebenden Bilde des Himmelsgewölbes.]

Ich verfahre so, dafs ich mit dem Triebe zwei Ausschläge um den unbestimmten Neutralpunkt herum mache: einerseits bis zur ersten Spur des zweifellosen Hellerseins des »Arbeitsplatzes«, anderseits bis zur ersten Spur des Dunklerseins, und die Mitte zwischen diesen zwei Ablesungen nehme ich als den Neutralpunkt.

Noch feiner wird das Verfahren — und so führe ich es eben aus —, wenn man von dem Punkte des zweifellosen Hellerseins

fein zurückschraubt, bis der Eindruck des zweifellosen Hellerseins eben sich verliert, analog mit dem Punkte des Dunklerseins verfährt, und dann die Mitte zwischen diesen zwei Ablesungen als den gesuchten Wert annimmt. Diese zwei Ablesungen sind einander nämlich dann immer sehr nahe.

Nach einiger Übung geschehen solche Ablesungen mit einer grofsen Sicherheit und Genauigkeit. Die Abweichungen zwischen mehreren Ablesungen sind nicht gröfser als bei den sonstigen präzisen Photometern. Das Prinzip und die Technik der Ablesung sind ja genau dieselben.

Die Ablesung geschieht in Millimetergraden, da der Apparat eine Millimeterskala hat.

Jedem Apparate ist aber eine Umrechnungstabelle beigefügt, welche z. B. bei meinem Exemplar des relativen Photometers folgender Art ausschaut (nur bruchstückweise angeführt, da die Tabelle für jeden Apparat eine andere ist):

Millimetergrad der Skala	Die Lichtintensität des betreffenden Platzes beträgt (gleichmäfsig diffus leuchtendes Himmelsgewölbe vorausgesetzt)	
	von der augenblicklichen Lichtintensität des Himmelsgewölbes	also bei Lichtintensität des Himmelsgewölbes von 2000 Meterkerzen
	%	Meterkerzen
2	4,00	80,0
3	3,92	78,4
4	3,85	77,0
5	3,78	75,6
—	—	—
—	—	—
20	2,73	54,6
21	2,66	53,2
22	2,58	51,6
—	—	—
—	—	—
40	1,32	26,4
41	1,25	25,0
42	1,18	23,6
43	1,11	22,2
44	1,04	20,8
45	0,97	19,4
46	0,90	18,0
47	0,83	16,6
—	—	—
—	—	—
53	0,41	8,2
54	0,36	7,2

Wenn sich bei der Ablesung Brüche von Millimeter ergeben — was in der Regel vorkommt — so werden entsprechende Werte interpoliert.

Das Resultat der Messung kann in der betreffenden Prozentzahl angegeben werden. Noch anschaulicher ist es aber, die Resultate in absoluter Anzahl der Meterkerzen anzugeben, welche der konventionellen minimalen Intensität des Himmelsgewölbes (2000 Meterkerzen) entspricht (siehe die dritte Spalte der Tabelle). Denn diese Zahl gibt direkt in Meterkerzen die Grenze an, bis zu welcher die Lichtintensität des betreffenden Platzes unter den ungünstigsten praktisch zu berücksichtigenden Verhältnissen sinkt.

In dieser Art sind auch die Resultate meiner im weiteren angeführten Messungen in den Tabellen angegeben.

II. Teil.

Ich habe nun das systematische Studium der die Tageslichtbeleuchtung betreffenden zahlreichen hygienischen Fragen mittels meiner Methode in Angriff genommen. Leider ist aber inzwischen die kalte Jahreszeit herangebrochen, welche länger dauernde solche Versuche im Freien wegen Erkältungsgefahr bei stundenlangem Sitzen und wegen der Schwierigkeit feinerer Arbeit mit gefrorenen Fingern unmöglich macht.

Ich mufs mich also in dieser Publikation auf die Mitteilung des bisher absolvierten kleinen Bruchstückes dieser Studien beschränken, welche ich im Frühjahr dann fortzusetzen gedenke.

Vor allem habe ich das Studium dieser Fragen in bezug auf die besonderen Verhältnisse der Schule unternommen.

Zu diesem Zwecke habe ich mir vom Tischler ein Modell einer Schulklasse von maximalen Ausmafsen anfertigen lassen in solcher Gröfse, dafs 1 m durch 3 cm im Modell dargestellt wird. Die Länge beträgt 10 m, die Breite 7 m, die Höhe 4 m.

Auch den 3 Fenstern habe ich die etwa maximalen Ausmafse (Länge der Glasfläche 2,1 m, Höhe der Glasfläche 3 m)

und die etwa günstigste Anordnung gegeben: die Glasfläche reicht bis 10 cm unterhalb der Zimmerdecke, die ganze Glasfläche eines Fensters ist nur in drei Teile geteilt (ein einheitlicher Oberflügel, der untere Teil des Fensters doppelflügelig), so dafs sie bei geschlossenem Fenster durch eine Tförmige Figur der Fensterrahmen[1]) unterbrochen erscheint. Die Arme der T-Figur haben eine Breite von 10 cm. Die Fenster sind als Doppelfenster ausgebildet. Die Dicke der Fensterwand (aus entsprechend dickem Brett ausgeschnitten) und die Entfernung der beiden Gasflächen jedes Doppelfensters von einander beträgt 66 cm, die Breite der zwei Zwischenfensterpfeiler der Fensterwand je 83 cm.

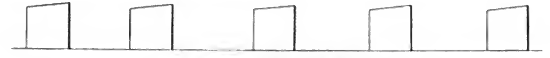


Fig. 3. (Halbe natürliche Größe.)

Der Fufsboden, die Wände, die Decke des Schulzimmers können mit einem weifsen, gelblichen, grauen usw. Papier bespannt werden, wodurch ein weifser, gelber usw. Wandanstrich, ferner reiner oder schmutziger Fufsboden nachgeahmt wird. Anstatt der Tafel ist ein Stück schwarzes Papier an der Vorderwand angeheftet. Dimensionen der Tafel: 2,5 × 1,4 m.)

Im Schulzimmer sind fünf (der Einfachheit der Modellkonstruktion halber in einem die ganze Klassenbreite durchlaufende) Bänke aufgestellt. Die vorderste Bank entspricht genau der Mitte des vorderen Zwischenfensterpfeilers, die zweite der Mitte des mittleren Fensters, die dritte der Mitte des hinteren Zwischenfensterpfeilers, die vierte der Mitte des hintersten Fensters, die fünfte ist bis an die Hinterwand des Schulzimmers herangerückt (letzte Bank des Schulzimmers).

Die »Bänke« sind einfache vierseitige Holzleisten von folgendem unregelmäfsigen Querschnitt (s. oben Fig. 3). Ihre Gröfse entspricht mittelgrofsen Bänken.

1) Im Modell ist die ganze Glasfläche eines Fensters durch eine einheitliche Glasplatte dargestellt, auf welcher die Rahmen durch aufgeklebte Streifen undurchscheinenden Papiers dargestellt sind.

[Für weitere Versuche habe ich mir »zweisitzige«, solche Bankmodelle hergestellt, welche in voller Anzahl in der Klasse aufgestellt werden.]

Die abgeschrägte Fläche ist die Arbeitsfläche der Bank. Die »Bänke« stellen natürlich nur die Banktische dar. Die Schülerfiguren sind einfach an den vorderen und an den hinteren Flächen der »Bänke« angeklebt. Die an der vorderen Fläche angeklebten repräsentieren die vor der betreffenden Bank sitzenden Schüler; die an der hinteren Fläche angeklebten repräsentieren die in der betreffenden Bank sitzenden Schüler.

Die Figurinen sind folgenderart angefertigt: Aus einer 10 mm breiten und 7 mm dicken vierseitigen Holzleiste wurden 3 cm lange Stückchen geschnitten, in einer Kaliumhypermanganatlösung gebadet, dadurch tief braun gefärbt (dunkle Kleidung), dann an dem einen Ende zur Markierung des Kopfes bis etwa 6 mm weit vom Ende ein wenig Holz abgetragen (lichtes Gesicht, dunkle Haare).

Die fünf über die ganze Breite des Zimmers laufenden »Bänke« mit den angeklebten Schülern sind an beiden Seiten in den betreffenden Entfernungen an je eine Seitenschiene einen (Blechstreifen) befestigt, welche wieder an den Boden des Schulzimmers mittels eines Heftnagels leicht angeheftet werden kann. (Siehe die Abbildung.)

Auf der ganzen Arbeitsfläche jeder Bank ist ein Streifen weifsen Papiers[1]) ausgebreitet, welcher an die Arbeitsfläche mittels eines längs der Vorderkante und eines längs der Hinterkante der Arbeitsfläche laufenden straff angespannten Fadens angeprefst ist. (Eine Veränderung der Ebene der photometrierten Arbeitsfläche durch nicht genaues Aufliegen des Papiers würde leicht eine Abweichung der Belichtungsintensität zur Folge haben wegen Veränderung des Einfallwinkels des Lichtes.)

Die Anordnung der Schüler in diesen Bänken ist so ausgeführt, wie wenn in dem Schulzimmer drei Reihen zweisitziger

1) Die Helligkeit des Arbeitsplatzes in der Schule mufs an einem weifsen Papier gemessen werden (entsprechend den Verhältnissen bei der Schreib- und Lesearbeit).

Bänke aufgestellt wären. Die von den Fenstern entfernteste Schülerreihe sitzt an einer Linie, welche von der den Fenstern gegenüberliegenden Wand 130 cm entfernt ist, die zweite Schülerreihe ist von der Wand 180 cm entfernt, die dritte und vierte Schülerreihe 330 resp. 380 cm, die fünfte und sechste Schülerreihe 530 resp. 580 cm.

Um den relativen Photometer auf die einzelnen Arbeitsplätze einstellen zu können, habe ich an der oberen Fläche der Zimmerdecke die genau senkrecht oberhalb der Mittelpunkte einzelner Arbeitsplätze befindlichen Punkte eingezeichnet und dann in denselben ein rundes Loch ausgebohrt.

[Man macht dies so, dafs man erstens senkrecht auf die Fensterwand fünf Gerade quer über die ganze Decke konstruiert: die erste in der Mitte des vorderen Zwischenfensterpfeilers, die zweite in der Mitte des mittleren Fensters, die dritte in der Mitte des hinteren Zwischenfensterpfeilers, die vierte in der Mitte des hintersten Fensters, die fünfte der letzten Bank entsprechend. Zweitens konstruiert man sechs den Schülerreihen entsprechende Gerade, welche auf die eben erwähnten fünf Geraden senkrecht und zwar in den oben angegebenen Entfernungen von der Innenwand des Schulzimmers verlaufen. Die 30 Schneidepunkte dieser Geraden liegen genau oberhalb der Mittelpunkte der einzelnen Arbeitsplätze. Um jeden diesen Schneidepunkt herum als Mittelpunkt wird ein rundes Loch durch die Decke ausgebohrt (Durchmesser etwa 1 cm).]

Das Brettchen, welches als Zimmerdecke dient, wird mittels Schrauben befestigt, um es — bei Vornahme von verschiedenen Manipulationen im Schulzimmer — leicht abnehmen zu können. Der innere Papierüberzug der Decke (Papier von der beabsichtigten Farbe) wird aber nicht mit so vielen Löchern versehen, sondern es werden nur die einer Bank entsprechenden Löcher ausgeführt und das — natürlich entsprechend lange — Papier wird bei der Messung nach Bedarf von Bank zu Bank verschoben. Zu diesem Zwecke mufs das Papier ein etwas steiferes sein (dünne Pappe) und die Decke (das Brettchen) darf n u r an

den Längsseiten angeschraubt sein[1]), um die Verschiebung des Papiers in der Richtung der Klassenlänge (zwischen dem Brettchen [»Decke«] und den oberen Kanten der beiden Querwände des Schulzimmers) zu ermöglichen.

Bei der Ausmessung eines Platzes werden natürlich die übrigen offenen Löcher (oberhalb der übrigen Plätze der betreffenden Bank) durch oben auf die Decke aufgelegte entsprechende Stückchen lichtdichten Papiers zugedeckt. (Da sonst durch dieselben Licht in die Klasse hineingelangen würde, wodurch die natürlichen Lichtverhältnisse verändert werden würden.)

Die Fensterwand des Schulzimmers ist in meinem Modell auswechselbar (abschraubbar) ausgeführt, um den Einflufs verschiedener Arten der Fensterausführung leicht studieren zu können.

Vor allem handelte es sich mir darum, unter welchen **äufseren** Verhältnissen ein möglichst günstig in bezug auf Zutritt des Tageslichtes an den Arbeitsplätzen hergestelltes Schnlzimmer, wie das in meinem Modell dargestellte, als Parterrezimmer (der ungünstigste Fall) auch für seine dunkelsten Arbeitsplätze — bei 2000 Meterkerzen Intensität des Himmelsgewölbes — noch die minimale zugelassene Belichtungsintensität von 20 Meterkerzen garantiert hätte.

Das belehrendste von meinen zur Beantwortung dieser Frage angestellten Experimenten ist das folgende:

I. Versuch.

Der Schule gegenüber liegt ein unendlich langes, dreistöckiges, 16,67 m hohes Gebäude, dessen Frontwand licht (gelblich weifs) gestrichen ist (das dazu benutzte Papier reflektierte im Vergleich zum rein weifsen Papiere — die Reflexion dieses als = 100 % gesetzt — 86 % des auffallenden Lichtes). Die Fensterflächen (Fenster in der bei Wohnhäusern üblichen Gröfse und Anzahl angebracht) und (zwei) Haustüren waren durch ein dunkelgrünlichgraues Papier dargestellt (Reflexion im Vergleich zum rein weifsen Papier = 27 %).[2])

1) Ich habe das Brettchen nur an der von den Fenstern abgewendeten Längsseite mit zwei Schrauben leicht angeschraubt.

2) Die »gegenüberliegende Wand« war mit einem gelblichweifsen Papier überspannt, in welchem die »Fenster« und »Türen« ausgeschnitten waren, und unter welches ein Blatt des dunkelgrünlichgrauen Papiers unterschoben war.

Die »Strafsenoberfläche ist ebenfalls mit dem erwähnten grünlichgrauen Papier überzogen.

Das Schulgebäude ist von dem gegenüberliegenden Gebäude 16,67 m entfernt, zweistöckig, 12,67 m hoch, seine Frontwand ebenso licht wie diejenige des gegenüberliegenden Gebäudes, die Fenster sind ebenfalls durch das grünlichgraue Papier dargestellt und über das ganze Schulgebäude ebenso (Gröfse, Verteilung) wie am Parterrezimmer ausgeführt. Auch das Schulgebäude ist durch die beiden Spiegel ins unendliche verlängert. Ebenso natürlich das leuchtende »Himmelsgewölbe« und die Strafsenoberfläche.

Der Fufsboden des Schulzimmers ist mit dem grünlichgrauen (27 % Reflexion) Papier bedeckt, die Wände und die Decke mit dem gelblichweifsen Papier (86 % Reflexion).

Das Resultat der Ausmessung der Belichtungsintensitäten der .einzelnen Arbeitsplätze unter den beschriebenen Verhältnissen ist das folgende:

Die Lichtintensitäten der einzelnen Arbeitsplätze in Meterkerzen — bei 2000 Meterkerzen Lichtintensität des Himmelsgewölbes — betragen[1]):

Bank Nr.	V.	III.	I.
4. Schülerreihe .	39,5	49,5	49,2
1. » . .	15,9	21,2	27,8

Dieses Beispiel dürfte also annähernd die in der Praxis ohne besondere Schwierigkeiten erreichbaren Grenzverhältnisse angeben, bei welchen eine praktisch genügende Beleuchtung (für das Prager Lichtklima) erzielt wird. Einige 2 bis 3 hintersten Plätze der 1. und 2. Schülerreihe sinken unter solchen Verhältnissen unter das geforderte Minimum, die müfsten also — besonders im dunkleren Jahresteile — unbenutzt bleiben.

Die Farbe des Schulzimmerfufsbodens ist zwar vielleicht etwas zu ungünstig angenommen (sehr schmutziger Fufsboden), dafür aber die Farbe des gegenüberliegenden und des Schulgebäudes

1) Diese hier erstangeführten Experimente (I und II) — mit auf seine ganze Höhe entferntem gegenüber liegendem Gebäude — waren eben die letzten von mir noch ausgeführten, bei welchen ich eben wegen kalter Witterung weitere Messungen für dieses Jahr aufgeben mufste. Deswegen sind eben auch die Zahlen nur für eine kleine Anzahl von Plätzen bestimmt, die folgenden, früher ausgeführten sind ausführlicher.

wieder sehr günstig, wie sie auf die Dauer in der Praxis nicht leicht zu erreichen ist.

Wie stark sich die Belichtungsverhältnisse verändern, wenn das gegenüberliegende Gebäude dunkler wird, davon zeugt der folgende

II. Versuch,

bei welchem die einzige Abänderung eingeführt wurde, dafs die ganze Frontwand nur 27 % (im Vergleich zum rein weifsen Papier) des auffallenden Lichtes reflektiert (die ganze Frontwand mit dem grünlichgrauen Papier überzogen).

Unter diesen Verhältnissen betragen die Lichtintensitäten der einzelnen Arbeitsplätze — bei 2000 Meterkerzen Lichtintensität des Himmelsgewölbes:

Bank Nr.	V.	III.	I.
4. Schülerreihe .	22,2	33,0	35,5
3. » . .	9,6	13,8	17,7
2. » . .	mit meinem Apparate, welcher nur bis 7,2 Meterkerzen reicht, nicht mehr mefsbar.		
1. » . .			

Wird die Entfernung des gegenüberliegenden Gebäudes bedeutend kleiner als seine Höhe gemacht, so ist eine genügende Beleuchtung aller Plätze im Parterrezimmer (ohne besondere Behelfe) nicht zu erreichen. Davon zeugt der

III. Versuch.

Anordnung des Schulzimmers dieselbe, auch die Strafsenoberfläche von derselben Farbe wie in den ersten Versuchen. Das gegenüberliegende Gebäude, sowie auch das Schulgebäude lichtfarbig, lichtgelb (77 % Reflexion), sogar ohne die dunkleren Fenster (als einheitliche Wand); aber seine Entfernung von dem Schulgebäude beträgt nur $^2/_3$ von seiner Höhe (16,67 m), nämlich 11,11 m.

Unter diesen Verhältnissen betragen die Lichtintensitäten der einzelnen Arbeitsplätze bei 2000 Meterkerzen Lichtintensität des Himmelsgewölbes:

Bank Nr.	V.	IV.	III.	II.	I.
4. Schülerreihe . . .	29,5	37,1	36,9	34,8	39,2
3. » . . .	21,5	28,5	28,2	28,5	31,6
2. » . . .	17,3	22,6	21,1	24,5	25,7
1. » . . .	14,5	16,9	18,7	18,7	21,8

Also 5 Plätze erscheinen unbrauchbar, obwohl die fensterlosen hellen Frontwände einen ausnahmsweise günstigen Umstand darstellen, auf welchen man in der Praxis im allgemeinen nicht rechnen kann.

Es sollen hier ferner noch einige Experimente angeführt werden, welche ich ausgeführt habe, um einige weitere den Lichtzutritt beeinflussende Momente quantitativ zu erfassen.

Versuch IV.

Derselbe Versuch wie der vorige, nur ist die Klasse unbesetzt, leer (keine Schüler darin).

Die Resultate der Messung waren die folgenden:

Bank Nr.	V.	IV.	III.	II.	I.
4. Schülerreihe . . .	40,4	47,4	49,5	49,7	49,5
3. » . . .	36,9	42,5	45,3	45,6	45,6
2. » . . .	29,9	33,4	35,5	38,4	37,2
1. » . . .	27,8	31,6	33,7	33,7	34,3

Diese Zahlen zeigen, wie gewaltig die Lichtintensität der Arbeitsplätze durch die Anwesenheit der Schüler abgeschwächt wird. Wieviel davon auf die Schlagschatten und wieviel auf die Lichtabsorption durch die dunkle Kleidung kommt, kann leicht durch weitere Versuche ermittelt werden.

Der folgende V. Versuch

zeigt die Verhältnisse, wie sie sich gestalten, wenn blofs die 1., 2., 3. und 4. Schülerreihe besetzt sind, die Schüler der 5. und 6. Reihe aber ausbleiben:

Bank Nr.	V.	IV.	III.	II.	I.
4. Schülerreihe . . .	31,6	38,8	40,7	39,2	41,4
3. » . . .	23,9	30,1	30,6	30,9	33,7
2. » . . .	17,6	22,9	23,1	26,4	27,4
1. » . . .	14,8	18,7	19,0	20,8	23,9

Der III. Versuch zeigt dann die Verhältnisse bei voller Besetzung der Klasse.

Der VI. Versuch

sollte mir zeigen, wieweit die Lichtfülle der Klasse unter den im III. Versuche beschriebenen Verhältnissen gehoben werden kann, wenn man auf die Fensterbrüstung eines jeden der 3 Fenster einen 2 m langen und 60 cm breiten in einem Winkel von etwa 15° geneigten Spiegel auflegt, welcher das auf die Fensterbrüstung auffallende Licht gegen die Decke reflektiert.

Das Resultat der Messung war das folgende:

Bank Nr.	V.	IV.	III.	II.	I.
4. Schülerreihe . . .	32,7	39,2	40,1	37,1	40,7
3. » . . .	25,3	31,3	31,3	31,0	32,9
2. » . . .	19,0	25,0	22,9	27,4	29,2
1. » . . .	16,6	19,7	20,8	23,2	27,1

Vergleicht man diese Zahlen mit den im III. Versuche erhobenen, so sieht man, dafs der Unterschied, die Besserung der Lichtverhältnisse, nicht unbedeutend ist. Sämtliche Schülerplätze zeigen eine gröfsere Lichtfülle. Der Zuwachs beträgt bei verschiedenen Plätzen 4—17 %, wobei im ganzen der relative Zuwachs desto gröfser ist je dunkler der Platz. Von den 5 unbrauchbaren Plätzen sind 3 zu brauchbaren geworden und auch die übrigen zwei bedeutend gebessert worden.

Es wird die Aufgabe weiterer Versuche sein, genauer die günstigen Bedingungen (Neigung des Spiegels u. a.) zu bestimmen. In einzelnen konkreten Fällen wird man am besten spezielle, auf die Verhältnisse des betreffenden Falles genau angepafste Versuche ausführen.

Der VII. Versuch

soll im Vergleich mit dem IV. Versuche illustrieren, wie stark die Lichtfülle des Schulzimmers durch dunkle Farbe des gegenüberliegenden Gebäudes (fensterlose gleichmäfsig graue Wand) herabgesetzt wird. (Vgl. auch den I. und II. Versuch.)

Die Verhältnisse waren bei diesem Versuche genau dieselben wie beim IV. Versuche, nur war die gegenüberliegende Wand grau (27 % Reflexion) anstatt lichtgelb (77 % Reflektion).

Die Lichtintensitäten der Arbeitsplätze betrugen:

Bank Nr.	V.	IV.	III.	II.	I.
4. Schülerreihe . . .	14,9	21,5	23,6	24,3	25,7
3. » . . .	10,3	16,6	19,4	19,4	20,1
2. » . . .	—[1]	7,7	9,3	9,9	9,6
1. » . . .	—[1]	—[1]	—[1]	7,7	7,7

Im VIII. Versuch

war aufserdem auch noch die Frontwand des Schulgebäudes mit demselben grauen Papier überzogen, was noch stärkere Abnahme der Lichtfülle der Klasse zur Folge hatte:

Bank Nr.	V.	IV.	III.	II.	I.
4. Schülerreihe . . .	11,0	15,5	20,5	20,1	19,4
3. » . . .	7,2	12,7	16,3	15,2	15,2
2. » . . .	sämtlich kleinere Werte als 7,2 (mit meinem Apparat nicht mefsbar).				
1. » . . .					

Dagegen zeigt der

IX. Versuch

eine wie grofse Lichtfülle zu erreichen wäre, wenn nicht nur die gegenüberliegende Wand und die Frontwand des Schulgebäudes, sondern sogar auch die (z. B. schneebedeckte) Strafsenoberfläche licht wären (Reflexion 77 %.)

Die entsprechenden Zahlen waren (Verhältnisse genau wie beim IV. Versuch, nur auch die Strafsenoberfläche lichtgelb):

Bank Nr.	V.	IV.	III.	II.	I.
4. Schülerreihe . . .	58,8	63,3	64,7	64,7	65,1
3. » . . .	56,3	59,9	62,3	62,3	62,3
2. » . . .	50,2	53,5	55,5	56,0	55,3
1. » . . .	48,5	50,5	54,1	53,5	53,2

Aus den eben angeführten Experimenten ergeben sich interessante Anhaltspunkte zur Beurteilung des Wertes des sogenannten Lichtraumwinkels als Mafs der Lichtversorgung des betreffenden Platzes.

1) Weniger als 7,2.

Durch günstige (lichte) Farbe der reflektierenden Flächen ist es zu erreichen, dafs Plätze, welche überhaupt keine direkten Lichtstrahlen vom Himmelsgewölbe bekommen, genügend — ja sogar ziemlich reichlich — mit Licht versorgt sind.

Z. B. die Schülerplätze der 1. Schülerreihe im I. Versuche bekommen überhaupt kein direktes Licht vom Himmelsgewölbe (ihr Raumwinkel ist numerisch gleich Null, nach geometrischer Konstruktion — siehe Fig. 4 — eigentlich sogar negativ[1]), und doch haben zwei Drittel von ihnen auch bei der minimalen konventionellen Lichtintensität des Himmelsgewölbes eine genügende Beleuchtung.

Konstruktion des äufsersten vom direkten Himmelslicht noch getroffenen Punktes in der Klasse beim I. und III. Versuch.

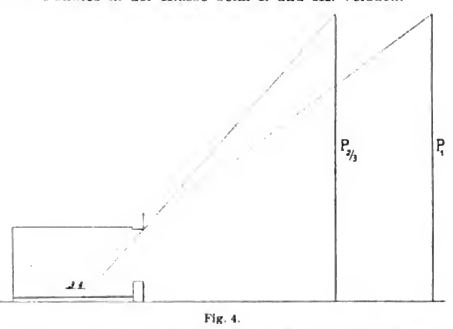


Fig. 4.

P_1 = Frontwand des gegenüberliegenden Gebäudes, dessen Entfernung von der Schule gleich seiner Höhe ist.

$P_{2/3}$ = Frontwand des gegenüberliegenden Gebäudes, dessen Entfernung von der Schule gleich $^2/_3$ seiner Höhe ist.

3. = Arbeitsplatz der 3. Schülerreihe, 4. = Arbeitsplatz der 4. Schülerreihe.

Noch weit auffallender ist es im III. Versuche, wo aber besonders günstige Reflektionsverhältnisse vorliegen, wie sie in der Praxis nur ausnahmsweise erreicht werden können: das

1) Der negative Wert des Raumwinkels hat die praktische Bedeutung, dafs der betreffende Platz noch weiter vom Fenster entfernt ist als ein Platz, dessen Raumwinkel geometrisch gleich Null ist.

»gegenüberliegende Gebäude« ist eine einheitliche, recht lichte Wand ohne die dunklen Fensterflecke; ebenso auch die Wand des Schulgebäudes, in welcher nur die Fenster der gemessenen Klasse ausgeführt sind. — In diesem Versuche bekommen alle Plätze der 1., 2., 3. und 4. Schülerreihe auch überhaupt kein direktes Himmelslicht (siehe Fig. 4) und doch haben nur fünf unter 20 solchen Plätzen ungenügende Beleuchtung.

Die Frage also, ob ein Schülerplatz, welcher nur reflektiertes (und kein vom Himmelsgewölbe direkt kommendes) Licht bekommt, durch dasselbe — und zwar ohne besondere Vorrichtungen — in genügendem Maſse belichtet werden kann, muſs also als im positiven Sinne entschieden betrachtet werden.

Anhang.

Systematische Messung der Intensität des Himmelgewölbes im Zenit (in Prag).

Als Kontrolle meiner vor zwei Jahren ausgeführten Messungen habe ich auch in diesem Winter auf dieselbe Art[1]) dieselben durchgeführt.

Die Resultate waren die folgenden (in Meterkerzen):

Datum	Um 9 Uhr vormittags	Bedeckung des Himmels	Um 3 Uhr nachmittags	Bedeckung des Himmels
Oktober 1906.				
22.	5 569	gleichmäſsig. Nebel	10 594	gleichmäſsig. Nebel
23.	8 817	» »	8 817	ungleichmäſsig
24.	3 968	» »	—	—
25.	8 817	» »	8 817	gleichmäſsig
26.	—	—	5 473	»
27.	3 690	» »	—	—
30.	7 115	» »	—	—
November				
8.	8 817	ungleichmäſsig	—	—
9.	2 885	gleichmäſsig blau	—	—
10.	4 600	zieml. gleichmäſsig	2 286	zieml. gleichmäſsig

1) Archiv für Hygiene, Bd. LIV, S 32.

Datum	Um 9 Uhr vormittags	Bedeckung des Himmels	Um 3 Uhr nachmittags	Bedeckung des Himmels
November				
12.	—	—	6 348	ungleichmäfsig
13.	—	—	3 292	»
20.	7 557	gleichmäfsig blau	2 572	gleichmäfsig blau
21.	4 176	» »	—	—
22.	—	—	4 572	gleichmäfsig
23.	5 471	ungleichmäfsig	2 032	gleichmäfsig blau
26.	4 828	zieml. gleichmäfsig	1 466	zieml. gleichmäfsig
27.	3 165	» »	925	gleichmäfsig, Regen
28.	—	—	1 983	ungleichmäfsig
29.	7 053	ungleichmäfsig	4 572	»
30.	4 408	»	1 727	»
Dezember				
1.	4 572	zieml. gleichmäfsig	1 727	ungleichmäfsig
3.	1 983	ungleichmäfsig	1 466	»
4.	4 408	»	4 572	»
5.	8 816	zieml. gleichmäfsig	707	gleichmäfsig, Regen
6.	4 959	» »	4 572	»
7.	1 807	» »	717	zieml. gleichmäfsig
10.	2 993	» »	1 413	ungleichmäfsig
11.	2 572	» »	3 578	zieml. gleichmäfsig
12.	4 959	» »	3 106	gleichmäfsig
13.	1 936	» »	2 159	ungleichmäfsig
14.	3 355	» »	2 159	zieml. gleichmäfsig
15.	4 115	gleichmäfsig	3 429	» »
17.	1 466	»	—	—
18.	2 572	zieml. gleichmäfsig	3 292	» »
19.	2 159	gleichmäfsig	4 572	» »
20.	4 572	»	3 658	» »
21.	959	»	2 159	» »
22.	2 032	»	4 115	» »
24.	2 159	»	—	—
27.	4 115	»	4 572	zieml. gleichmäfsig
28.	3 292	»	2 743	gleichmäfsig
29.	747	gleichmäfsig, Nebel	2 993	zieml. gleichmäfsig
31.	3 355	gleichmäfsig	4 115	» »
Januar 1907				
2.	4 572	ungleichmäfsig	2 032	ungleichmäfsig
3.	4 115	»	4 572	»
4.	1 789	»	3 429	zieml. gleichmäfsig
5.	3 658	zieml. gleichmäfsig	2 032	» »
7.	2 318	» »	3 578	» »
8.	2 698	gleichmäfsig	—	—

Datum	Um 9 Uhr vormittags	Bedeckung des Himmels	Um 3 Uhr nachmittags	Bedeckung des Himmels
Januar				
9.	2 939	gleichmäfsig	1 895	gleichmäfsig
10.	1 751	»	2 058	»
11.	4 572	»	2 939	»
12.	4 572	»	—	—
14.	4 959	ungleichmäfsig	1 646	gleichmäfsig
15.	3 919	gleichmäfsig	2 939	zieml. gleichmäfsig
16.	1 496	zieml. gleichmäfsig	971	gleichmäfsig
17.	—	—	3 292	ungleichmäfsig
18.	2 939	gleichmäfsig	2 698	zieml. gleichmäfsig
19.	1 431	»	—	—
21.	2 572	»	3 919	zieml. gleichmäfsig
22.	3 658	»	3 292	» »
23.	3 919	blauer Himmel	3 578	blauer Himmel
24.	3 658	» »	3 919	» »
25.	4 115	» »	3 919	» »
26.	1 829	gleichmäfsig	—	—
28.	2 790	»	2 939	zieml. gleichmäfsig
29.	3 292	ungleichmäfsig	3 919	» »
30.	4 572	»	4 115	ungleichmäfsig
31.	4 572	zieml. gleichmäfsig	4 959	zieml. gleichmäfsig
Februar				
1.	4 959	» »	4 176	» »
4.	3 106	» »	3 658	» »

Das Resultat dieser Messungen kann man etwa folgender Art resumieren:

In ähnlicher Weise wie bei meinen früheren Messungen[1]) hielt sich die Intensität des Himmelsgewölbes im Zenit mit Ausnahme wieder des ungünstigen Monates: Dezember, welcher aber dieses Mal (relativ) abnorm günstig, licht war — zwischen der 9. Stunde vormittags und der 3. Stunde nachmittags fast ausnahmslos oberhalb des Wertes von 1500 Meterkerzen, und selbst kleinere Werte als 2000 Meterkerzen kamen ziemlich selten vor: Unter 82 Messungen ergaben nur 8 (= 9,8%) Fälle Intensitäten unterhalb 2000 und von diesen 8 nur 3 (= 3,6%) eine Intensität unterhalb 1500 Meterkerzen. [Für den Winter 1904/05

1) Archiv für Hygiene, Bd. LIV.

waren die betreffenden Zahlen: 56 Messungen, davon 3 (= 5,4%) unterhalb 2000 Meterkerzen, davon 1 (= 1,8%) unterhalb 1500 Meterkerzen].

Im Dezember ergaben die Messungen wieder bedeutend — wenn auch nicht in dem Mafse wie im Winter vor zwei Jahren — ungünstigere Resultate: Unter 44 Messungen wiesen 11 (= 25%) eine niedrigere Intensität als 2000 Meterkerzen auf, von diesen 11 Intensitäten waren 7 (= 15,9%) geringer als 1500 Meterkerzen, und von diesen 7 sogar 4 Intensitäten (= 9%) kleiner als 1000 Meterkerzen. [Für den Winter 1904/05 waren die betreffenden Zahlen: 39 Messungen, davon 19 (= 48,7%) unterhalb 2000 Meterkerzen, davon 11 (= 28,2%) unterhalb 1500 Meterkerzen, davon 3 (= 7,4%) unterhalb 1000 Meterkerzen.]

Ich glaube auf Grund dieser Resultate (für Prag) die »konventionelle minimale Tageshelligkeit«, wie ich sie in meiner ersten Arbeit angegeben habe, nämlich im Werte von 2000 Meterkerzen, beibehalten zu sollen.

Es wäre sehr wünschenswert, wenn solche Messungen auch in möglichst zahlreichen anderen Städten ausgeführt würden.

Anmerkung bei der Korrektur.

Während der Durchlegung meiner Arbeit ist die wichtige Arbeit von Possek (Archiv f. Hygiene Bd. 60) erschienen. — Aus diesen Untersuchungen ergibt sich vor allem von neuem, dafs die Sehschärfe bei verschiedenen Personen beim Sinken der Lichtintensität von 30 bis zu 3 Meterkerzen in sehr verschiedener Art sich verändert. Die Durchschnittszahlen aber (von 60 Normal- und 60 Kurzsichtigen) ergeben, dafs bei Normalsichtigen im Durchschnitt 10 Meterkerzen, ja nach der Ansicht des Autors selbst sogar 6 Meterkerzen, als minimale Lichtintensität zugelassen werden können. — Würde man also 10 Meterkerzen als den absoluten Grenzwert annehmen, so könnte man sich mit $^1/_2$% relativer Lichtintensität im Sinne der relativen Photometrie, als dem minimalen Grenzwert begnügen.

Über die Angreifbarkeit der verzinnten Konservenbüchsen durch Säuren und verschiedene Konserven.

Nach zum Teil in Gemeinschaft mit den Herren P. A. Walther aus Würzburg, Paul Dercken aus Westfalen, Dr. Ferd. Müller aus Wittlich, Dr. L. Schüller aus Trier, Dr. W. Glaser aus Niederramstadt und Dr. Isidor Lilienstein aus Grävenwiesbach angestellten Versuchen von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

I. Einleitung und Literatur.

Im Bd. 45, S. 88 dieses Archivs habe ich über eine Reihe von Untersuchungen berichtet, welche ich über den Zinngehalt von Konserven und seine hygienisch-toxikologische Bedeutung angestellt habe. Ich hatte zwar aus meinen Studien den Schlufs

[1]) Die genannten Herren haben über einen Teil der Resultate in ihren Dissertationen berichtet:

P. A. Walther, Orientierende Versuche über das Verhalten von Konservenbüchsen gegen Säuren (noch nicht gedruckt).

P. Dercken, Weitere Versuche über das Verhalten etc. Der Autor ist leider verstorben kurz vor der Promotion.

F. Müller, Über die Löslichkeit des Zinns durch Weinsäure usf.

L. Schüller, Orientierungsversuche über die Löslichkeit des Zinns unter verschiedenen Bedingungen des praktischen Lebens.

W. Glaser, Über den Einflufs des Fettes, der Nitrate und des Offenstehens auf den Zinngehalt von Konserven.

J. Lilienstein, Neue Untersuchungen zur Frage der Zinnlösung in Konservenbüchsen; Einflufs der Viskosität, des Zuckergehaltes und einer deckenden Fettschicht.

Eine vorläufige Mitteilung von Prof. Dr. K. B. Lehmann in der physik-med. Gesellschaft in Würzburg fand statt am 21. Juni 1905, ein Referat findet sich in den Sitzungsberichten der Gesellschaft 1905.

gezogen, dafs die Zinnmengen, wie sie aus den Weifsblechbüchsen in unsere Konserven übergehen, keine grofse hygienische Bedeutung besitzen, und dafs sie nur selten akute ernstere Verdauungsstörungen und wohl niemals eine chronische Vergiftung hervorzurufen imstande sind. Doch schienen mir bei dem Interesse, das in weiteren Kreisen dem Metallgehalt unserer Nahrungsmittel entgegengebracht wird, ausgedehntere Untersuchungen im Interesse der Hygiene und Nahrungsmittelindustrie am Platze.

Nach der a. a. O. von mir gegebenen Zusammenstellung des Zinngehalts in einem Kilo vegetabilischer Konserven schwankt derselbe zwischen Spuren und ca. 600 mg pro Kilo. Mengen von 150—250 mg sind sehr oft beobachtet.

In der Literatur habe ich seitdem noch folgende weitere Angabe gefunden:

In dem Bericht über die Nahrungsmittelkontrolle in Hamburg im Jahre 1903 und 1904 berichtet Farnsteiner von Zinnuntersuchungen in Rhabarber, der in lackierten Weifsblechbüchsen aufbewahrt war. Der Lacküberzug war mehr oder weniger zerstört und in gleichem Mafse war die Verzinnung angegriffen. Die Konserven enthielten pro Kilo 150—800 mg Zinn. An der gleichen Ware wurden von Hamburger Handelslaboratorien sogar über 1350 mg Zinn pro Kilo nachgewiesen. Diese Konserven stammten aus dem Jahre 1899 und wurden als frische Ernte verkauft. Die Rhabarberkonserven enthielten rd. 0,6 % Apfelsäure, 0,2 % Oxalsäure.

Es schien der Mühe wert, zu erforschen, woher dann diese gewaltigen Schwankungen im Zinngehalte kämen. Der erste Gedanke, dafs es in erster Linie auf die Azidität der Füllung ankomme, ist sicher nicht geeignet, alles zu erklären, denn es finden sich sehr zinnreiche Spargel von minimaler Azidität neben zinnarmen sauren Fruchtsäften.

Die einzigen mir bekannten systematischen Versuche, die man heranziehen konnte, hat R. Kayser[1]) in Nürnberg über Lösungen von Zinn durch Säuren und Chlornatrium angestellt. Er füllte Weifsblechbüchsen von einer Kapazität von 250 ccm mit der zu untersuchenden Flüssigkeit und verschlofs die Büchsen

[1]) R. Kayser, Über zinnhaltige Konserven, Forschungsberichte über Lebensmittel. 1. Jahrgang 1894. — Irrtümlicherweise habe ich die obigen Zinnzahlen in meiner Publikation im Bd. 45 des Archivs zehnmal zu niedrig angegeben, indem ich sie auf 1 l bezogen annahm.

unverlötet mit dem Weifsblechdeckel. Es ist dies wohl so zu verstehen, dafs die moderne Falzmethode beim Büchsenverschlufs angewendet wurde. Am Schlufs des Versuchs wurde der Inhalt der Büchsen durch Schütteln gut gemischt und Proben herauspipettiert. Fest ansitzende Kristallüberzüge von Zinnsalzen waren entweder nicht vorhanden oder sie wurden bei der Analyse nicht beachtet.

Tabelle I.
Es lösten 100 ccm:

		nach 1 Monat	nach 5 Monaten	nach 1 Jahr
	°/₀	mg	mg	mg
Essigsäure	0,5	1,4	2,8	4,1
	2,0	3,2	4,2	5,1
Weinsäure	0,2	4,9	7,2	10,0
	0,5	12,0	21,0	42,9
Apfelsäure	0,2	5,1	6,8	7,9
	0,5	10,6	18,2	22,9
Chlornatrium	0,2	—	Spur	2,3
	0,5	—	2,2	5,4

Zunächst erschienen mir diese Zahlen — weil ich sie durch ein Versehen auf 1 l statt auf 0,1 l bezog — auffallend nieder, zweitens fehlten Versuche mit höheren Säurekonzentrationen, während doch der Säuregehalt der üblichen Obstsorten nach König meist zwischen 1 und 2 bis 2½% Säure beträgt[1]), und endlich fehlte mir jeder Fingerzeig, wie ich die hohen Zinnzahlen in wenig sauren Gemüsen erklären sollte.

[1]) Nach König beträgt der durchschnittliche Säuregehalt der Äpfel 0,82%; er steigt aber gar nicht selten bis 1,3, ja 1,67%. Zwetschgen enthalten 0,85%; Pflaumen 1,5%, Reineklauden 0,91% freie Säure, wobei die Natur der Säure nicht angegeben ist. Bei Aprikosen wird der Durchschnittssäuregehalt zu 1,16%, das Maximum zu 1,8% angegeben; bei Kirschen der Durchschnitt zu 0,91%, das Maximum zu 2%; bei Weintrauben der Durchschnitt zu 0,78%, das Maximum zu 1,36%; bei Erdbeeren der Durchschnitt zu 0,93%, das Maximum zu 1,65%; bei Himbeeren der Durchschnitt zu 1,42%, das Maximum zu 1,98%; bei Heidelbeeren der Durchschnitt zu 1,66%; bei Maulbeeren zu 1,86%; bei Stachelbeeren der Durchschnitt zu 1,42%, das Maximum zu 2,4%, bei Johannisbeeren zu 2,15%, das Maximum zu

Die eigenen Versuche, die ich 1902 mit meinen Schülern begann, wollten zunächst den Einflufs der Säurekonzentration und daneben den des Lacküberzuges der Büchsen feststellen. Erst nach einer gröfseren Reihe von Versuchen kam ich allmählich dahinter, dafs noch ganz andere Faktoren von mafsgebender Bedeutung für die Zinnlösung seien, Faktoren, die bisher meines Wissens kaum oder gar nicht beachtet sind. Und wenn ich später erkennen mufste, dafs die ersten Versuchsreihen, unter falscher Voraussetzung angesetzt, vielfach zu unbrauchbaren Resultaten führen mufsten, so habe ich doch die Genugtuung, dafs die vergeblich aufgewendete Arbeit doch schliefslich auf den richtigen Weg führte.

2. Methodik.

In den ersten Versuchsreihen wurde nebeneinander mit Weinsäure, Apfelsäure und Zitronensäure gearbeitet. Die beiden erstgenannten Säuren wurden gewählt, weil sie nach Kayser besonders stark Zinn lösen; die weitverbreitete und in ihrem Zinnlösungsvermögen noch nicht studierte Zitronensäure fügte ich neu hinzu.

2,53 %; bei Preifselbeeren zu 2,34 %. Die Säure der Äpfel besteht aus Apfelsäure, die Säure der Trauben wird als Weinsäure berechnet. Sonst finde ich nur noch die Angabe, dafs die Säure der Himbeeren als Weinsäure, die Säure der Preifselbeere als Apfelsäure berechnet sei. Was für Annahmen bei den anderen Obstsorten für die Berechnung der Säure aus dem Titrierergebnis gemacht sind, ist nicht gesagt.

Im Begriff, das Manuskript abzusenden, erhalte ich Nr. 12 der Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genufsmittel, Bd. 12, vom 15. Dezember 1906 mit den ausführlichen Angaben über die Fruchtsaftstatistik vom Jahre 1906, an der sich nicht weniger als sechs Untersuchungsämter für Nahrungsmittel methodisch beteiligt haben. Es finden sich sehr saure Säfte darunter. Namentlich Johannisbeersaft (aus schwarzen Johannisbeeren) mit einer Azidität bis zu 62 ccm Normalsäure in 100 Saft oder mit einem Apfelsäuregehalt bis 4,1 % fällt auf. — Die von mir später am häufigsten gewählten Aziditäten 1 % Weinsäure (13,3 ccm Normalsäure in 100) und 17 ccm Normalsäure in 100 entsprechen teils etwa (13,3), stärker sauren Fruchtsirupen teils (17) schwach sauren Fruchtsäften. Die Fruchtsirupe enthalten etwa 68 % Invertzucker. Die im folgenden erwähnten Fruchtsäfte, wie sie im Kleinhandel sind, wären alle korrekter als Fruchtsirupe zu bezeichnen.

Später wurde nur noch Weinsäure verwendet, weil es undurchführbar war, die vielen Einzelfragen mit mehreren Säuren zu studieren.

Die im folgenden verwendeten Büchsen waren aus verzinntem Eisenblech mit modernen Maschinen zusammengefalzt und nur bei Verwendung von stärkerem Blech von aufsen in der Längsnat wenig gelötet. Da gegenwärtig das Weifsblech für saure Konserven in der Regel einen Lacküberzug erhält, so wurde auch dessen Bedeutung durch Parallelversuche mit lackierten Büchsen geprüft. Die Bleche werden von dem Konservenfabrikanten blank bezogen und selbst lackiert. Nach dem Überstreichen mit Lack werden die Bleche im Ofen gebacken, wobei je nach der Temperatur hellgelbe bis goldbraune Töne auftreten. Die Büchsen hatten 9 cm Durchmesser, 13 cm Höhe und fafsten zwischen 830 und 850 ccm Flüssigkeit.

Die Oberfläche, welche mit der Flüssigkeit in Berührung kam, berechnete sich zu rd. 340 qcm Mantelfläche und 63 qcm Bodenfläche. Auf diesen rd. 400 qcm sind rd. 1260 mg Zinn aufgetragen. Vier Bestimmungen von vier Stellen eines gröfseren Weifsbleches, wie es damals zu der Büchsenherstellung verwendet wurde, ergaben pro 5 qcm Blech, d. h. pro 10 qcm Oberfläche 43, 41,5 40 und 38 mg SnO_2, also im Durchschnitt 40 mg SnO_2, gleich 31,5 mg Zinn. Dies macht 3,15 mg pro qcm. Unten noch mitzuteilende Versuche an drei verschiedenen anderen Blechen ergaben 3,7, 3,5 und 2,6 mg. Bei der Untersuchung von derberem Blech, wie es zu Fleischkonserven für das Militär diente, hatte ich früher a. a. O. 10 mg pro 1 qcm gefunden.

Über die verwendete Lackmenge kann ich folgendes angeben: Als das verzinnte einseitig lackierte Eisenblech in Salzsäure gelöst wurde, schieden sich, entsprechend 25 qcm Oberfläche, 16,0 und 19,1 mg einer leichten klumpigen Masse ab, die dem Lacküberzug entspricht; es kommen also etwa 0,7 mg Lack auf 1 qcm Büchsenoberfläche.

Über die Methodik der Bestimmung des Zinns und des Eisens in reinen Säurelösungen ist nicht viel zu berichten. Das Zinn

wurde bei schwach salzsaurer Reaktion durch Schwefelwasserstoff gefällt, abfiltriert und etwas mit Schwefelwasserstoffwasser ausgewaschen. Hierauf wurde es nochmals in heifser, verdünnter Salzsäure gelöst und ein zweites Mal mit Schwefelwasserstoff gefällt. Auf diese Weise wurde es reingelb und frei von Eisen erhalten. Das Schwefelzinn wurde mit etwas Salpetersäure in einem Porzellantiegel übergossen, abgedampft, schwach geglüht und als SnO_2 gewogen.

War Zinn und ev. Eisen in einer stark zuckerreichen, viskösen Flüssigkeit gelöst (Fruchtsirupe und Nachahmungen solcher), so geschah die Zinnbestimmung auf folgende Weise. Die auf ihren Zinngehalt zu prüfende Substanz wurde verkohlt, zu Asche verbrannt, die mit heifser, verdünnter Salzsäure aufgenommen und filtriert wurde. Das Filter wurde durch häufiges Auswaschen mit heifsem Wasser von der Salzsäure befreit, darauf verbrannt, geglüht und mit festem Kaliumhydrat in einen silbernen Tiegel gegeben, wo der Schmelzungsprozefs (Umwandlung in Kaliumstannat) bei mäfsiger Erwärmung innerhalb drei Minuten glatt vor sich ging. Nun wurde das in Wasser gelöste Schmelzungsprodukt mit dem vorher gewonnenen Filtrat vereinigt, Schwefelwasserstoff eingeleitet und die Menge des Zinns und im Filtrat das Eisen wie oben bestimmt.

Die Methode ist rasch und bequem ausführbar und sehr zu empfehlen.

Im Filtrat vom Zinn wurde das Eisen durch Schwefelammonium gefällt, und zu dem Niederschlag die zweite kleine Schwefeleisenmenge gefügt, welche mit dem Zinn bei seiner ersten Fällung niedergeschlagen war. Das vereinigte Schwefeleisen wurde in Salzsäure gelöst, der Schwefel abfiltriert, die Flüssigkeit mit etwas Kaliumchlorat gekocht und mit Natronlauge unter Kochen gefällt. Das Eisenhydroxyd wurde abfiltriert, die Filter verbrannt und das Eisen als Eisenoxyd gewogen. In einer Anzahl von Versuchen mit reinen organischen Säuren wurde noch einfacher verfahren, es wurde nämlich das Schwefeleisen einfach durch Glühen in Eisenoxyd verwandelt.

3. Erste orientierende Versuchsreihe mit Blechbüchsen.

Die ersten Versuche sind von den Herren Walther und Dercken mit Büchsen von 850 ccm Inhalt und 800 ccm Füllung angestellt, welche mit Glasplatten und Paraffin so gut und sorgfältig wie möglich verschlossen wurden. Untersucht auf Zinngehalt wurde nach 1 und 3 Monaten.

Das Resultat der Untersuchung in den nur zu $^9/_{10}$ gefüllten, mit Paraffin verschlossenen Büchsen war ein sehr auffallendes. Schon nach 4 Wochen waren bei allen stärker sauren Füllungen aus den blanken Büchsen sehr grofse Zinnmengen gelöst.

Tabelle II.
Nach 1 Monat waren mg Zinn pro 1 l gelöst:

	%	mg	%	mg	%	mg
Weinsäure	$^1/_2$	924	1	1042	2	1060
Zitronensäure . . .	$^1/_2$	680	1	743	2	1088
Apfelsäure	$^1/_2$	574	1	—	2	1026

Nach 3 Monaten untersucht, waren die Resultate nicht wesentlich anders. Es wurden ungefähr die gleichen Mengen in Lösung gebracht.

Tabelle III.

	%	mg	%	mg	%	mg
Weinsäure	$^1/_2$	1232	1	932	2	1035
Zitronensäure . . .	$^1/_2$	1019	1	811	2	1224
Apfelsäure	$^1/_2$	586	—	—	2	1180

Wenn wir diese Ergebnisse in einen Satz zusammenfassen, so lautet er: Aus nicht vollständig gefüllten, im übrigen aber mit Glas und Paraffin verschlossenen blank verzinnten Blechbüchsen lösen Weinsäure, Zitronensäure und Apfelsäure schon von der Konzentration von $^1/_2$% ab binnen 4 Wochen stets Mengen von über 500 mg pro l Zinn auf. Weinsäure scheint bei der

geringsten Konzentration etwas stärker wie Zitronensäure, Zitronensäure etwas särker wie Apfelsäure zu wirken. Doch sind die Versuche mit Apfelsäure nicht in genügender Zahl angestellt. Bei einem Gehalt von 1% und 2% ist schon nach 4 Wochen eine Lösung von 750—1088 mg Zinn vorhanden, resp. die 1260 mg Zinnüberzug der Büchsen sind zu 60—80% entfernt.

Wenn wir fragen, in welchem Zustande sich die eingefüllte Flüssigkeit und die Büchsen befunden haben, so läfst sich etwa folgendes sagen: Nach 4 Wochen war die Flüssigkeit in der Regel farblos oder blafsgelblich. An Stelle des blanken Zinnüberzugs zeigte das Innere der Büchse in gröfserer oder geringerer Ausdehnung einen grauen, undeutlich kristallinischen Überzug, der manchmal sehr schön moiréeartig ausgebildet war. Die Verfärbung und Moiréebildung beginnt bei den Büchsen immer an der Oberfläche der Flüssigkeit; im Anfang des Versuchs und bei schwächeren Konzentrationen (nach 4 Wochen bei $^1/_2$%) ist der untere Teil der Wandung und der Boden der Büchsen noch blank, ein Fingerzeig dafür, dafs der von oben zutretende Sauerstoff bei der Lösung des Zinns eine wichtige Rolle spielt.

Im Eisengehalt des Büchseninhalts finden wir einen grofsen Unterschied zwischen den 4wöchentlichen und 3monatlichen Versuchen, wie dies wohl leicht verständlich ist.

Tabelle IV.
Es waren nach 4 Wochen gelöst (mg Eisen pro 1 l):

	%	mg	%	mg	%	mg
Weinsäure	$^1/_2$	164,5	1	31,5	2	326,0
Zitronensäure . . .	$^1/_2$	106	1	299,6	2	267
Apfelsäure	$^1/_2$	114			2	304

In den Büchsen war etwa in der Hälfte der Fälle gar kein Anzeichen zu sehen, dafs Eisen angegriffen war. »Rost« fehlte meist ganz oder er war nur spurweise als braune Fleckchen an der Längsnaht oder an der Bodennaht vorhanden. Einige Male zeigte sich über dem Flüssigkeitsspiegel ein Streifchen von Salzkristallen.

Aufserordentlich viel gröfser waren meist die Mengen, die nach 3 Monaten gelöst waren. Es fanden sich nach 3 Monaten:

Tabelle V.

	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg
							offen	
Bei Weinsäure . . .	$^1/_2$	1078	1	2058	2	1722	2	5288
» Zitronensäure .	$^1/_2$	336	1	1771		3199	2	
» Apfelsäure . . .		—	1	77		2814	2	

Die Eisenzahlen sind ebensowenig wie die Zinnzahlen absolut regelmäfsig. Einzelne Werte fallen aus der Reihe heraus. Es lag nahe, anzunehmen, dafs die Güte der Verzinnung bei den einzelnen Büchsen eine etwas verschiedene sei, und dafs etwaige kleine schlecht verzinnte Stellen besonders an der Falzstelle von bedeutendem Einflufs auf die Menge des in Lösung gegangenen Eisens und Zinns seien.

Wesentlich günstiger als das Resultat, das an den unlackierten Büchsen gewonnen wurde, war das, welches die lackierten Büchsen lieferten. Die Ergebnisse zeigten deutlich den ausgezeichneten Schutz, den das Lackieren der Büchsen gegen den Angriff der Säuren unter den gewählten Versuchsbedingungen darstellt.

Tabelle VI.
Nach 4 Wochen betrug bei den lackierten Büchsen der Gehalt an Zinn pro 1 l nur:

	Mit Glasdeckel und Paraffin verschlossen:						Offen:	
	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg
Weinsäure	$^1/_2$	50	1	46	2	59	2	70
Zitronensäure . . .	$^1/_2$	15	1	25	2	35		
Apfelsäure	$^1/_2$	18			2	53		

Auch nach drei Monaten war die in lackierten Büchsen in Lösung gegangene Menge sehr erheblich kleiner als wie in den nicht lackierten. Sie betrug zwischen 35 und 150 mg, währenddem, wie wir oben gesehen haben, die nicht lackierten Büchsen

in dieser Zeit 568 mg bis zu 1280 mg Zinn abgegeben haben. Ähnlich wie gegen die Abgabe von Zinn schützt das Lackieren auch gegen die Abgabe von Eisen. Wir finden nach 4 Wochen nur Eisenmengen von 11—88 mg, nach 3 Monaten Eisenmengen von 21—161 mg. Oder der Zinngehalt beträgt in der Regel höchstens 10% von dem der unlackierten Büchsen, in der Mehrzahl der Fälle übersteigt er aber nicht 5%. Auch der Eisengehalt beträgt bei den kürzer dauernden Versuchen nur 5—10%, bei den länger dauernden nur 1—3% von dem, den die unlackierten Büchsen liefern.

Die eben mitgeteilten aufserordentlich hohen Zinn- und Eisenzahlen aus den blanken Büchsen mufsten von vornherein den Gedanken nahe legen, dafs dieselben ihre Ursache einem Abweichen von der gewöhnlichen Art der Büchsenfüllung oder Verschliefsung verdankten, denn wer könnte Konserven gebrauchen, die einen derartigen Zinn- und Eisengehalt zeigen, wer könnte mit Büchsen arbeiten, die wie die Versuchsbüchsen, angegriffen werden. Schon nach 4 Wochen zeigte sich dann und wann im oberen Niveau des Büchseninhalts, also ca. 2 cm unter dem Glasdeckel, ein mehr oder weniger deutlicher von aufsen sichtbarer Angriff der Büchsenwand! Nach 3 Monaten waren die besprochenen Beschädigungen resp. Durchfressungen der Büchsenwand bei der Mehrzahl der Büchsen zu konstatieren, ja nicht selten war die Zerstörung der Büchse so vollständig, dafs sich die Büchse in zwei Stücke auseinandernehmen liefs. Das obere Stück wurde gebildet aus einem ca. 2 cm breiten Streifen der Büchsenwand mit dem aufgekitteten Glasdeckel.

Auf die Wiedergabe von Versuchen, die über 1¼ Jahre ausgedehnt wurden, verzichte ich, eine grofse Anzahl derselben zeigte nach dieser langen Zeit unzweifelhaft schlechtes Funktionieren des Verschlufsdeckels. In den wenigen tadellos schliefsenden Büchsen aber fand sich zuweilen wenig Zinn und Eisen — eine starke Anregung zur Anstellung von Experimenten mit absolut sicherem Schlusse.

Ich füge hier an, dafs spezielle Versuche, ob es möglich sei, einen Glasdeckel auf eine Zinnblechbüchse mit Paraffin fest anzukitten (Verschlufsweise der ersten Serie), zeigten, dafs dies gegen unsere ursprüngliche Erwartung sehr oft nicht der Fall war. Der gleiche Institutsdiener, der die früheren Büchsen teils allein teils zusammen mit den Praktikanten verschlossen hatte, wurde angewiesen, auf 7 Büchsen einen Glasdeckel wie früher aufzuparaffinieren, nachdem er 100 ccm Wasser eingefüllt. Beim langsamem Umdrehen der Büchsen lief eine sofort, eine andere allmählich aus, zwei weitere liefsen ein wenig Wasser durch das Paraffin treten, wenn man es schwach gegen das Glas schleuderte. Auch die drei übrigen Büchsen wurden bei etwas derberem Anfassen allmählich undicht, der Deckel sprang ab. Es war also kein Zweifel, dafs der von uns in der ersten Versuchsreihe gewählte Verschlufs auch bei sorgsamem Umgehen mit den Büchsen vielfach undicht gewesen sein mufste, dafs aber gar ein Aufeinanderstellen gefüllter Büchsen den Verschlufs auf das ärgste gefährdet.

Ähnliche Resultate erhielten wir, als wir etwas Ammoniakflüssigkeit in Büchsen füllten, sie dann mit Paraffin verschlossen und mit Nefslerpapier auf Dichtigkeit prüften.

4. Versuche über den Einflufs des Sauerstoffs auf die Lösung des Zinns.

Die Ergebnisse des dritten Abschnittes drängten darauf hin, den Einflufs des Büchsenverschlusses und damit die Bedeutung des Sauerstoffzutritts methodisch zu untersuchen. Sowie die Frage klar aufgestellt war, waren auch klare Antworten zu erhalten.

Die erste Versuchsreihe zur Feststellung der lösenden Wirkung des Sauerstoffs wurde folgendermafsen angestellt:

Ich bezog von der Firma Ohles Erben in Breslau Zinnblech aus dem reinsten technisch verwendeten Zinn, wie es für die Nahrungsmittelindustrie angewendet wird. Das wundervoll blanke Blech wurde mit Äther abgewaschen und Stücke von 110,8 qm Oberfläche (beide Seiten gerechnet) daraus geschnitten. Zwei der

Stücke wurden in ganz gefüllte, luftdicht durch Paraffin verschlossene Glasbehälter gebracht, so dafs die reine Säure ihre ganze Oberfläche bedeckte. Die zwei andern liefsen wir, an Fäden aufgehängt, in gröfsere nur teilweise mit Säure gefüllte Glasbehälter bis auf einige Millimeter weit eintauchen und gewährten der Luft zu diesen Behältern freien Zutritt, indem wir sie nur lose mit einer Glasplatte bedeckten.

Um bei diesem Versuche gleichzeitig den etwaigen Einflufs des Eisens auf die Löslichkeit des Zinns zu studieren, wurden durch eines der im ganz vollen und durch eines der im luftenthaltenden Glasbehälter befindlichen Zinnstücke je sechs eiserne Nägel mehrfach durchgesteckt, so dafs sie mit dem Zinn in möglichst innige Berührung kamen.

Während des 10 Tage dauernden Versuchs wurden die Gläser ständig kontrolliert und dabei nachstehende Veränderungen wahrgenommen:

In den luftdicht verschlossenen Behältern spielten sich keine grofsen Veränderungen ab. Wo das Zinn allein war, blieb in den 10 Tagen des Versuchs das Zinn und die Säure unverändert. Wo Zinn und Eisen zusammen waren, bildete sich eine grofse Gasblase. Das Zinn war ebenfalls mit Gasbläschen bedeckt. Sonst blieb alles unverändert. In den Behältern mit Luftzutritt dagegen entstand bereits am zweiten Tage des Versuchs in der Höhe des Flüssigkeitsspiegels ein grauschwarzer Streifen, der mit der Zeit dunkler und nach unten breiter wurde. Wo neben dem Zinn auch Eisen war, färbte sich die Flüssigkeit gelblich und die Eisenstücke bräunlich.

Ich verzichte auf nähere Angaben über die erste Versuchsreihe, da die Flüssigkeits- und Zinnmengen nicht genau gleich gewählt waren in den Versuchen mit und ohne Luftzutritt. Doch war ihr Resultat schlagend für die Bedeutung des Luftzutritts in 10 Tagen, da bei Sauerstoffabschlufs nur 1,2 bis 1,36 mg Zinn pro 100 ccm gelöst wurden, bei Luftzutritt 16,4 resp. 25,6 mg, obwohl bei den beiden letzteren Versuchen mehr Flüssigkeit und weniger Zinn angewandt waren.

Sobald die beiden dem Luftzutritt ausgesetzt gewesenen Zinnstücke aus den Behältern herausgenommen waren und einige Minuten an der Luft lagen, wurden die schwarzen Streifen schnell stärker und breiter. Auch da wo ein Säuretropfen am Zinn hing, entstand bald ein schwarzer Fleck. Hiernach scheint es, dafs die schwarzen Verfärbungen überall da zustande kommen, wo der Sauerstoff der Luft und Weinsäure mit Zinn zusammenkommen. Dafs die schwarzen Flecken Zinn enthalten, ist leicht zu beweisen. Man kann sie teilweise sehr leicht abreiben, in Salzsäure lösen und Zinn darin nachweisen. Es ist wohl am wahrscheinlichsten, dafs die schwarze Substanz nichts anderes ist als Zinnmetall, und zwar besteht sie aus zurückbleibenden Teilchen, zwischen denen andere durch die Säure gelöst sind.

Die beiden Zinnstücke, die der Weinsäure allein ohne Luft ausgesetzt waren, blieben völlig blank; demnach greift also die Säure allein das Zinn nicht oder doch nur sehr wenig an, sondern erst dann, wenn sie gemeinsam mit Luft auf dasselbe einwirken kann.

Nur in den Gläsern, die neben Zinn Eisen enthielten, zeigte sich Gasbildung. Als wir nun einen vergleichenden Versuch machten über die Gasmenge, die sich in 1proz. Weinsäure aus Nägeln entwickelt mit und ohne Anwesenheit von Zinn, zeigte sich der auffallende Befund, dafs Zinnanwesenheit sichtbar die Wasserstoffbildung aus Eisen und die Eisenlösung vermindert.

Dieser Tatsache sind wir später nachgegangen.

Für die späteren genauen Versuche nahm ich darauf Rücksicht, dafs in den üblichen Büchsen von ca. 870 ccm Inhalt 440 qcm Zinn mit der Flüssigkeit in Berührung kommen, es wurden in die Gläser 435 ccm Flüssigkeit und ein Zinnstück gebracht, das auf beiden Seiten 220 qcm Oberfläche hatte. Ein Teil der Versuche wurde mit ausgekochter, im Wasserstoffstrom abgekühlter Weinsäure in ganz gefülltem mit Paraffin noch umgossenem Gefäfs gemacht, bei anderen wurde ein bestimmtes kleines Luftvolum in das Gefäfs miteingeschlossen, in noch an-

deren enthielt das locker verschlossene Gefäfs viel Luft.[1] Die Versuche mit Luftzutritt wurden alle so angestellt, dafs das Zinn ein Stück weit aus der Flüssigkeit herausragte.

[1]) Die Versuche mit viel Luft waren nicht so geblieben, wie sie angesetzt wurden, denn die eingehängten Zinnstücke waren, da der Faden rifs, teilweise und zwar verschieden tief in die Säure eingesunken. Dadurch sind die Resultate ungleichmäfsig geworden. Derselbe Versuch wurde deshalb nochmals angestellt, jedoch blofs auf 12 Tage ausgedehnt, weil bereits nach dieser Zeit die Zinnscheibe durchgefressen war.

Tabelle

Einwirkung des Sauerstoffs der Luft auf die

	I. Versuch mit viel Luft (nach 4 Wochen)		Ia. Versuch mit viel Luft (nach 12 Tagen)	
	Zinn (4 Gefäfse)	Zinn u. Eisen (2 Gefäfse)	Zinn (2 Gefäfse)	Zinn u. Eisen (2 Gefäfse)
Verschlufs der Gefäfse	Deckel lose aufgelegt	Deckel lose aufgelegt	—	—
Gesamt-Oberfläche des Zinns in qcm	220	220	220	220
Oberfläche d. eingetauchten Stückes in qcm	200	200	200	200
Gasbildung	0	0	0	0
Aussehen des Zinns	Alle 4 Zinnstücke sind gleichmäfsig grauschwarz gefärbt. 3 Stücke sind, da der Aufhängefaden rifs, untergesunken. Das 3. ist in der Höhe des Flüssigkeitsspiegels teilweise durchgefressen, sein aus der Säure herausragender Teil ist blank	Beide Zinnstücke sind in der Höhe des Flüssigkeitsspiegels durchgefressen. Der untere, schwärzlich gefärbte Teil ist in die Flüssigkeit eingesunken. Der aus der Säure herausragende Teil ist blank. Die Nägel sitzen noch überall fest	In der Höhe des Flüssigkeitsspiegels ist das Zinn glatt durchgefressen. Der in der Flüssigkeit befindliche Teil ist an einzelnen Stellen grauschwarz verfärbt. Der herausragende Teil ist vollständig blank	Die Nägel sitzen noch überall fest
Zinngehalt in 435 ccm in mg	436; 443; 257; 258	288; 442	237; 231	251; 228
Menge des in 435 ccm gelösten Eisens in mg	0	18,0; 13	0	26; 15

Die Resultate sind in der Tabelle VII enthalten.

Aus diesen Versuchen folgt:

I. Auf die Mengen des gelöstens Zinns ist die Luft von gröfstem Einflufs. Auch alle sichtbaren Veränderungen (schwarze Färbung etc.) am Zinn kommen nur dann zustande, wenn die Luft mit der Säure zusammen das Zinn angreifen kann; denn die vollständig der Luft entzogenen Zinnstücke (Versuch III u. V) zeigen gar keine

VII.

Löslichkeit von Zinn in 1 proz. Weinsäure.

II. Versuche mit 25 ccm Luft (nach 4 Wochen)		III. Versuche mit 25 ccm Luft (nach 3 Monaten)		IV. Versuche ohne Luft (nach 4 Wochen)		V. Versuche ohne Luft (nach 3 Monaten)	
Zinn (2 Gefäfse)	Zinn u. Eisen (1 Gefäfs)	Zinn (2 Gefäfse)	Zinn u. Eisen (1 Gefäfs)	Zinn (2 Gefäfse)	Zinn u. Eisen (1 Gefäfs)	Zinn (2 Gefäfse)	Zinn u. Eisen (1 Gefäfs)
Verschlufs unversehrt		Ganz unversehrt	Paraffin an einigen Stellen durchbrochen	Ganz unversehrt	Paraffin gesprengt	Ganz unversehrt	Paraffin an einigen Stellen durchbrochen
220	220	216	216	220	220	216	216
184	184	198	198	220	220	216	216
θ	ja	θ	ja	θ	ja	θ	ja
Der eingetauchte Zinnteil zeigt an seiner ganzen Oberfläche eine gleichmäfsige bläulichgraue Verfärbung. Der herausragende Teil ist unverändert. In der Höhe des Flüssigkeitsspiegels ist das Zinn leicht angefressen		Der in die Flüssigkeit eingetauchte Teil der Zinnstücke zeigt eine gleichmäfsig graue Verfärbung. In der Höhe des Flüssigkeitsspiegels ist ein scharfer, schwarzer Streifen. Der aus der Säure herausragende Teil ist vollständig blank		Das Zinn ist unverändert	Die Nägel sitzen noch vollständig fest	Das Zinn ist unverändert	Die Nägel sitzen noch vollständig fest
	Die Nägel sitzen noch vollständig fest		Die Nägel sitzen noch ganz fest				
41; 30	29	51; 56	60	12; 6	15	8; 5	12
θ	6	θ	11	θ	18	θ	21

sichtbaren Veränderungen und nur minimale Zinnlösung, d. h. etwa 10—24 mg pro l.[1]) Ist genügend Luft vorhanden, so wird das Zinn an der Berührungsstelle zwischen Luft und Säure durchgefressen und in 4 Wochen 500—800 mg Zinn pro l gelöst (Versuch I u. Ia); ist nur wenig Luft da, so kommt es an dieser Stelle als Ausdruck des stärkeren Angriffs nur zur Bildung eines schwarzen Streifens durch Aufressen des blanken Zinns und zu einer Lösung von 70—90 mg in 4 Wochen, von 110—120 in 12 Wochen.

II. Dem Eisen kommt in bezug auf Lösung und Veränderungen des Zinns keine Bedeutung zu, denn es brachte weder äufserlich sichtbare Veränderungen am Zinn hervor, noch waren die gelösten Zinnmengen in den Eisenversuchen wesentlich von denen der übrigen Versuche verschieden. Wo kleine Differenzen vorhanden sind, lassen sie sich so erklären, dafs infolge der vom Eisen verursachten Gasbildung der Verschlufs undicht wurde und so die Luft spurweise Zutritt hatte.

III. Die Lösung des Eisens überschritt — gleichgültig, ob Luft zur Flüssigkeitsoberfläche zutreten konnte oder nicht — nie 60 mg im l, sie blieb meist erheblich niedriger — es ist dies dem gleichzeitig vorhandenen Zinnblech zuzuschreiben, denn eiserne Nägel lösen sich bei Abwesenheit von Zinnblech leicht in Weinsäure.

Ich lasse hier gleich die Versuche folgen, die wir weiter anstellten zur Aufklärung der wunderbar geringen Eisenlösung[2]) bei Anwesenheit von Zinn, die oben (S. 79) vorläufig erwähnt ist.

1) Diese geringe Zinnlösung läfst sich auf Luftspuren beziehen, die in der Flüssigkeit beim Kochen zurückblieben und auf Sauerstoff, der an der Oberfläche des Zinns kondensiert ist.

2) M. Siegfeld teilt mit, dafs von einer zur Hälfte verzinnten Kupferplatte in Milchsäure sich kein Kupfer löste, vielmehr Zinn auf das Kupfer niederschlug. (Milch-Ztg. 1902, Bd. 31, S. 401 nach Z. f. U. d. N. 1903, 223.)

Die Lösung des Eisens geht parallel einer Wasserstoffbildung:

$$Fe + C_4O_6H_6 = C_4O_6H_4Fe + H_2.$$

Also gibt ein Messen des gebildeten Wasserstoffs einen Mafsstab für das gelöste Eisen. Zinn und Weinsäure bilden gar keinen Wasserstoff.

Bei den Versuchen war nicht nur zu studieren, wie die Lösung des Eisens vom Zinn beeinflufst wird, sondern auch, ob die Anwesenheit des Eisens die Lösung des Zinns beeinflufste. In den Experimenten war stets der Luftsauerstoff vollkommen ausgeschlossen.

Ein Vorversuch ergab:

a) 200 qcm Zinn (auf beiden Seiten gemessen) + 8 Eisenstifte (2,5 g Eisen) + 200 ccm 1 proz. Weinsäure.

In 48 h bildete sich nur wenig Wasserstoff und 0,14 mg Eisen wurden gelöst.

b) Kein Zinn + 8 Eisenstifte + 200 ccm 1 proz. Weinsäure.

In 48 h bildete sich reichlich Wasserstoff und 4,6 mg Eisen wurden gelöst.

Der Hauptversuch wurde folgendermafsen ausgeführt:

Tabelle VIII.

1. 100 qcm Zinn + 200 ccm 1 proz. Weinsäure.
2. 100 » » + 25 Eisenstifte + 200 ccm 1 proz. Weinsäure.
3. + 25 » + 200 » » »

Zeit (in Stunden)	I. Zinn		II. Eisen und Zinn			III. Eisen	
	Gas in ccm	Gelöstes Zinn in mg	Gas in ccm	Gelöstes Eisen in mg	Gelöstes Zinn in mg	Gas in ccm	Gelöstes Eisen in mg
50	0	—	3	—	—	25	—
100	0	—	6	—	—	49	—
150	0	2,0	9 bis 10	30,8	2,4	74	199,2

Es stört also das Eisen nicht die Lösung des Zinns unter den gegebenen Verhältnissen, wohl aber enorm das Zinn die Lösung des Eisens.

Wenn man das eine negative Katalyse nennen will, mag man es tun, ich mufs mich bescheiden, die interessante Tatsache zu konstatieren.

5. Mafsgebende Versuche an Blechbüchsen mit korrektem Verschlufs bei Füllung mit Säurelösungen und Fruchtsäften.

a) Versuche über das Verhalten verschiedener verzinnter Bleche gegen Säure.

Ehe die neugewonnene Erkenntnis von der ausschlaggebenden Bedeutung des Sauerstoffs für die Zinnlösung weiter in Versuchen an Blechbüchsen erprobt werden konnte, galt es, das Verhalten verschiedener Bleche unter genau gleichen Bedingungen zu studieren.

Der Fabrikant hatte uns nämlich zugestanden, und eine Revision der noch vorhandenen gebrauchten leeren Büchsen hat dies ebenfalls ergeben, dafs bei den oben mitgeteilten Versuchen nicht immer Büchsen aus gleichem Blech zu jedem Versuch verwendet worden seien. Im Gegenteil wurden eben, wenn für uns Blechbüchsen angefertigt wurden, die Blechsorten resp. Reste, die gerade vorrätig waren, verwendet. Die Verschiedenheit der Bleche konnte vielleicht manche Unregelmäfsigkeit erklären. Die drei wichtigsten Blechsorten, welche unser Lieferant zur Zeit meiner Versuche verwendete, sind in folgendem mit den Buchstaben R, D, H bezeichnet.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Blechen schien nicht wahrnehmbar, die Verzinnung bei allen intakt und gut zu sein. In Schwefelammonium gebracht, zeigt keines der Bleche schwarze Stellen, Eisen liegt also nirgends merklich frei zutage. Von jeder Marke wurde nunmehr je eine Probe in 50 ccm kalte konzentrierte Salzsäure gelegt. Das Verhalten der einzelnen Proben ist in der folgenden Tabelle beschrieben.

Tabelle IX.

Verhalten der 3 Blechsorten in kalter konzentrierter Salzäure.

Marke . .	R	D	H
Nach 2 Min.	Das Blech ist ganz mit Bläschen bedeckt.		
» 5 »	Beginn von Moiréebildung.		
» 2 Std.	Geringe Gasentwicklung. Moirée deutlich ausgeprägt. Farbe der Säure unverändert. Bis jetzt also kein Unterschied.		
» 18 »	Farbe der Säure unverändert. Alles Zinn scheint sich gelöst zu haben. Einzelne Eisen- und Kohlenteilchen schweben abgelöst in der Flüssigkeit. Geringe Gasentwicklung. Keine angefressenen Ränder	Farbe der Säure unverändert. Das Zinn noch nicht ganz gelöst. Keine Gasentwicklung, keine angefressenen Ränder	Säure grünlich verfärbt. Alles Zinn gelöst. Ziemlich viel Eisen- und Kohlenteilchen in der Flüssigkeit, reichliche Gasentwicklung. Die Ränder angefressen, das Eisen beginnt sich also bereits zu lösen.
» 2 Tagen	Nicht viel anders als nach 18 Stunden		Das Blech ist vollständig aufgelöst. Säure grünlich verfärbt, enthält viele Kohlenteilchen neben einigen Eisenteilchen.
» $3^1/_2$ »	Das Eisen beginnt sich zu lösen, der Rand ist angefressen. Die Oberfläche des Blechs zeigt dunkle Flecken. Die Säure ist grünlich gefärbt	Der Rand des Blechs ist noch ganz intakt. Die Säure ist noch nicht verfärbt. Einige Kohlenteilchen schwimmen darin	Wie nach 2 Tagen.
» $4^1/_2$ »	Der Rand ist stärker ausgefressen, die gelösten Eisen- und Kohlenteilchen sind zahlreicher, die Gasentwicklung stärker	Der Rand und die Oberfläche noch unversehrt Die Säure beginnt sich grün zu färben	Die Eisenteilchen haben sich ganz gelöst. Es ist nur noch Kohle in der nun gelbgrünen Flüssigkeit, die nach Arsen- und Phosphorwasserstoff riecht.
» 8 » beim Abbrechen des Versuchs	Das Blech ist noch nicht aufgelöst, aber sehr stark angegriffen. Es bildet eine sehr dünne Scheibe (0,887 g), die abgespült und gegen das Licht gehalten mit ihrer netzartigen Struktur wie Luffa aussieht. Die Säure riecht stark nach Arsen- oder Phosphorwasserstoff	Das Blech ist etwas angegriffen, wiegt noch (0,994 g); abgespült und gegen das Licht gehalten sieht es wie ein dünn geschliffenes Stückchen Eichenholz aus. Die Säure riecht deutlich nach Arsen- oder Phosphorwasserstoff	

Diese Resultate lassen es wahrscheinlich erscheinen, dafs die Probe H wesentlich schlechter verzinnt sei als R und D, und in der Tat ergab sich bei Behandlung von Blechstücken von 5 cm Seitenlänge mit heifser konzentrierter Salzsäure folgendes:

Tabelle X.

	R	D	H
Verhalten in heifser Salzsäure	Zur vollständigen Auflösung des Bleches dauerte es 3/4 Stunden. Die Lösung war dunkel schmutzig gefärbt und enthielt einige Eisen- und Kohlenteilchen	Auch hier dauerte die Auflösung 3/4 Stunden. Die Lösung war ganz klar von hellgrüner Farbe und enthielt weder Eisen noch Kohlenteilchen	Die Auflösungszeit war etwas geringer; die Lösung war sehr trüb und dunkel und enthielt zahlreiche Eisen- und Kohlenteilchen
Bei der Analyse gefundenes Zinnoxyd pro 50 qcm	a) 0,2300 g b) 0,2297 g	a) 0,2231 g b) 0,2195 g	a) 0,1634 b) 0,1658
Also reines Zinn pro 1 qcm	3,7 mg	3,5 mg	2,6 mg

Es stimmt also zu meinen obigen Beobachtungen, dafs Marke R und D stark, H wesentlich schwächer verzinnt ist, offenbar spielte aber neben der verschiedenen Verzinnung für die Resultate der Tabelle IX auch die Beschaffenheit des Eisens eine Rolle.

b) Versuche mit korrekt verschlossenen Weifsblechbüchsen verschiedener Qualität und von verschiedenem Luftinhalt.

Auf der Basis dieser Versuche habe ich nun mit den Herren Schüller und Müller eine Reihe von Versuchen an Blechbüchsen ausgeführt, welche die Bedeutung der Blechbeschaffenheit (es wurden drei verschiedene Blechsorten verwendet) und den Einflufs des Luftgehalts nebeneinander zeigen sollen. Es

wurden 30 Büchsen von 850 ccm Inhalt gewählt, dieselben zum Teil so voll wie möglich gemacht, zum Teil aber nur mit 800, zum Teil nur mit 300 ccm Flüssigkeit gefüllt, um so einen kleinen und einen grofsen Luftvorrat zur Verfügung zu haben. Verschlossen wurden die Büchsen in der Konservenfabrik. Die Versuche wurden weiter dahin variiert, dafs eine Serie derselben aus der Blechmarke H, eine andere aus R und D hergestellt wurde. Endlich wurde jede Büchse einmal in unlackiertem und einmal in lackiertem Zustand verwendet. Die Füllung geschah ausnahmslos mit 1 proz. Weinsäure. Alle Proben wurden einmal nach 4 Wochen, einmal nach 3 Monaten untersucht.

Ich teile die Resultate in der Tabelle XI (S. 88) mit, geordnet nach dem Füllungszustand derselben. Auf Eisenbestimmungen wurde Verzicht geleistet.

Diese Tabelle zeigt:

I. Die Blechbeschaffenheit ist von Einflufs auf die Löslichkeit des Zinns; denn in den aus der Marke H hergestellten Büchsen mit sehr wenig und mit 50 ccm Luft ist durchweg deutlich mehr Zinn gelöst als in den aus den beiden andern Blechbüchsen gefertigten, trotzdem bei der ersteren die Verzinnung um 28,7 % schwächer ist als bei den andern. Diese sind fast ganz gleich verzinnt und sind ziemlich gleichmäfsig angegriffen.

II. Die Lackierung bildet bei gut gefüllten Büchsen einen guten Schutz, denn sie setzt, wie klar ersichtlich ist, die gelösten Zinnmengen ganz bedeutend herab.

III. Die Zeitdauer (1 Monat oder 3 Monate) der Säureeinwirkung ist nur von ganz untergeordnetem Einflufs, dagegen kommt

IV. der Luft eine alle anderen Einflüsse weit übertreffende Bedeutung bei der Zinnlösung zu. Sie ist — von der

Tabelle XI. Versuch mit Büchsen von 850 ccm Inhalt. Verschlufs durch den Konservenfabrikanten.
Zinn in mg berechnet für 1000 ccm:

Marke	Füllung möglichst = 850 ccm (Luftgehalt sehr klein				Füllung 800 ccm (Luftgehalt 50 ccm)				Füllung 300 ccm (Luftgehalt 550 ccm)			
	Nach 4 Wochen		Nach 3 Monaten		Nach 4 Wochen		Nach 3 Monaten		Nach 4 Wochen		Nach 3 Monaten	
	blank	lackiert	blank	lackiert	blank	lackiert	blank	lackiert	blank	lackiert	blank	lackiert
H	**100** M = 1 S = 1 R = 0	**39** L = 0 M = 0 S = 0 R = 0	**118** M = 1 S = 1 R = 0	**41** L = 2 M = 1 S = 0 R = 0	**148** M = 2 S = 1 R = 0	**44** L = 1 M = 1 S = 1 R = 0	**130** M = 2 S = 1 R = 0	**55** L = 2 M = 1 S = 0 R = 0			**816** M = 3 S = 3 R = 2	**280** L = 2 M = 1 S = 0 R = 1
R	**54** M = 1 S = 1 R = 0	**29** L = 1 M = 0 S = 0 R = 0	**78** M = 1 S = 0 R = 0	**45** L = 0 M = 1 S = 0 R = 0	**118** M = 2 S = 1 R = 0	**41** L = 0 M = 1 S = 0 R = 0	**89** M = 1 S = 1 R = 0	**54** L = 0 M = 0 S = 0 R = 0	**1183** M = 3 S = 3 R = 2	**166** L = 1 M = 1 S = 0 R = 1		
D	**69** M = 1 S = 1 R = 0	**28** L = 0 M = 0 S = 0 R = 0	**89** M = 1 S = 1 R = 0	**49** L = 1 M = 0 S = 0 R = 0	**74** M = 1 S = 1 R = 0	**49** L = 1 M = 0 S = 1 R = 0	**105** M = 1 S = 1 R = 0	**49** L = 2 M = 2 S = 0 R = 1			**1113** M = 3 S = 3 R = 3	**336** L = 2 M = 0 S = 0 R = 3
Marke unbekannt			**121** M = 1 S = ? R = 0	**76** L = 1 R = 0								

Erklärung der Zeichen des Angriffsgrades:

Lack:
- L = 0 Lackierung intakt.
- L = 1 „ angegriffen.
- L = 2 „ stark angegriffen.

Moiré:
- M = 0 Kein Moirée.
- M = 1 Deutliches aber schwaches Moirée.
- M = 2 Starkes Moirée.
- M = 3 Äußerst starkes Moirée.

Streifen im Niveau:
- S = 0 Kein schwärzlich verfärbter Streifen im Flüssigkeitsniveau.
- S = 1 Deutlicher, aber schmaler „ „ „ „
- S = 2 Breiter „ „ „ „
- S = 3 Der ganze mit der Säure in direkter Berührung gewesene Teil ist schwärzlich verfärbt.

Rost:
- R = 0 Kein Rost
- R = 1 Schwacher Rost, besonders an der senkrechten Lötstelle.
- R = 2 Starke Rostbildung.
- R = 3 Sehr starke Rostbildung.

Lackierung abgesehen — der praktisch zunächst allein in Frage kommende Faktor.

Um die Wirkung verschieden starker Säure zu prüfen, wurde Weinsäure in 3 Konzentrationen angewendet und das Resultat von Tabelle XII erhalten.

Tabelle XII.

Inhalt der Büchsen 800—850 ccm. Volle Büchsen in der Fabrik verschlossen. Gelöstes Zinn und Eisen in mg auf 1000 ccm umgerechnet:

Säurekonzentration	Art der Büchse	Nach 1 Monat		Nach 3 Monaten	
		Zinn	Eisen	Zinn	Eisen
½ proz. Weinsäure . . .	blank	150	5	128	11
	lackiert	52	3	79	13
1 » » . . .	blank	159	7	130	11
	lackiert	60	18	82	18
2 » » . . .	blank	163	6	141	11
	lackiert	63	6	80	8

Hieraus folgt:

1. Es nimmt nach 1 Monat aus tadellos verschlossenen blanken Büchsen die Zinnlösung nicht mehr zu, sie entspricht dann etwa der Bindung von 10—12 mg Sauerstoff. Ja, man könnte aus den Versuchen sogar schliefsen, dafs mit weiterer Eisenlösung wieder etwas Zinn ausgefällt wird.

2. Bei lackierten Büchsen ist nach 1 Monat die Zinnlösung nur etwa halb so grofs wie in nicht lackierten, doch nimmt mit Zunahme der Versuchsdauer die Zinnlösung in diesem Falle noch zu, es ist eben noch Sauerstoff vorhanden.

3. Die Zinnlösung wird durch einen Weinsäuregehalt von ½, 1, 2% nicht wesentlich beeinflufst, es ist aber immerhin ein minimal höherer Zinngehalt bei den saueren Proben zu konstatieren.

Es lag mir nun daran, einige Versuche unter Anwendung von Fruchtsäften vorzunehmen; die Fruchtsäfte bezog ich von der Firma Wucherer. Dieselben wurden vor meinen Augen kunstgerecht in Büchsen verschlossen.

Die Fruchtsäfte sind mit 10% Zucker vergoren, 75 g frischer Saft wiegt etwa 100 g.

Tabelle XIII.

Versuche mit kunstgerecht eingefülltem und verschlossenem Himbeersaft und Johannisbeersaft.

Versuchsdauer	Inhalt	Azidität pro 100 ccm in NS	Büchsengröfse	Lack	Aussehen nach Versuch	Zinn pro 1 l	Eisen pro 1 l
1 Monat	Erdbeersaft	16	375	unlack.	etwas Moirée	140	—[1]
				lackiert	tadellos	41	—[1]
4 Monate	Weichselsaft	10	375	unlack.	wenig angegriffen	78	17
				lackiert	tadellos	44	9
16 »	Himbeersaft	10	490	unlack.	schlecht	265	32
			490	lackiert	gut	23	30
	Johannisbeersaft	34	750	unlack.	schlecht	312	112
	»	34	750	unlack.	schlecht	331	116
	»	34	750	lackiert	schlecht Lack beschädigt	339	70
	»	34	750	lackiert	schlecht	263	73

Hierauf wurden reine Weinsäurelösungen ebenso eingefüllt und verschlossen.

Eine Reihe älterer Konserven, die zum gröfsten Teil im Institut gelagert hatten, wurden schliefslich auch noch untersucht und dabei, wo es möglich war, Büchse und fester Inhalt getrennt analysiert. (Tabelle XIV, S. 92 u. 93.)

1) Die hohen Eisenzahlen 641 bei der unlackierten und 489 bei der lackierten Büchse, die meine Originaltabelle enthält, sind mir so unverständlich, dafs ich sie weglasse, obwohl ich keinen Grund habe, an einen Analysenfehler zu denken. Kommafehler?

6. Theoretische Betrachtungen über die Rolle des Sauerstoffs bei der Zinnlösung.

Die von uns gefundene Haupttatsache, dafs sich ohne Sauerstoffzutritt kein oder nur sehr wenig Zinn in Weinsäure löst, war natürlich in der chemischen Literatur, wie ich mich nachträglich überzeugte, nicht ganz unbekannt, wenn auch die üblichen Bücher nichts Bestimmtes darüber sagen und meines Wissens noch niemand in einer praktischen Zwecken gewidmeten Arbeit darauf hingewiesen hat.[1])

Eine sehr klare Darstellung der hier interessierenden Frage, die allerdings gerade beim Zinn eine Dunkelheit läfst, habe ich in Ostwalds »Grundzügen der anorganischen Chemie« gefunden. Er nimmt an, »dafs alle Metalle durch Wasserstoff aus ihren Lösungen ausgeschieden werden können, wenn man diesen nur von passender Konzentration anwendet. Es würde eine Reaktion $Zn + H_2SO_4 = ZnSO_4 + H_2$ sich umkehren lassen, so dafs aus Zinksulfat und Wasserstoff Zink und Schwefelsäure entstehen. Die verschiedenen Metalle unterscheiden sich in ihrem Verhalten gegen Säuren nur durch die verschiedenen Konzentrationen, die der Wasserstoff für eine solche Reaktion brauchen würde. Während sie im Falle des Zinks sehr grofs sein müfste, da ja die Zerlegung der Säuren durch das Metall so leicht von sich geht, so wäre sie umgekehrt im Falle des Silbers sehr klein, denn

1) So vermisse ich z. B. in dem vortrefflichen »Ausführlichen Lehrbuch der Pharmarzeutischen Chemie von Ernst Schmidt, 4. Aufl., 1878« irgendeine Bemerkung über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Zinnlösung. — Dagegen gibt Schmidt für das Kupfer ganz genau an, dafs es blofs bei Sauerstoffzutritt in verdünnten Säuren löslich sei (S. 928). Vgl. auch K. B. Lehmann, Über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Löslichkeit des Kupfers in Säuren. Arch. f. Hyg., XXIV, 49.

Tabelle

Zinn in alten Büchsenkonserven. Alle Büchsen sind auf 14 mm Quecksilber-

Nr.	Inhalt der Büchsen	Aussehen des Inhalts	Azidität der Brühe für 100 ccm = ccm norm. NaOH	Aussehen der Büchsen im Innern
I	Weichselsaft mit 12 % Zucker	blaurot, trüb	18,0	blank. Leichtes Moirée in der ganzen Büchse, lila angelaufen
II	do.	» »	18,0	lackiert. Tadellos
III	do.	» »	18,0	blank. Wie I
IV	do.	» »	18,0	lackiert. Wie II
V	Hochfeine Preifselbeeren. Auffallend trocken	blaurot, sehr trocken	—	lackiert. Wie II am Flüssigkeitsniveau an verschiedenen Stellen durchlöchert
VI	Brechspargel, mittel locker gefüllt	normal, locker gefüllt	—	blank. Wie I
VIa	Brühe von V	do.	—	—
VII	Erbsen, mittelfeine	sehr grün, etwas schleimig. Gekupfert	—	blank. Ganz leichtes Moirée in der ganzen Büchse. Viele blauschwarze Flecken. (Kupfer!)
VIII	Schnittspargel, locker gefüllt	normal, locker gefüllt	—	blank. Viele graue matte Stellen. — Aufsen ein grofser Rostflecken. Die Druckprüfung zeigte, dafs der Rost nur aufsen war
VIIIa	Brühe von VIII	normal	—	—
IX	feinste marinierte Heringe. 3 Heringe vom Boden der Büchse entnommen	»	—	blank. Kräftiges Moirée in der ganzen Büchse. Am Deckel einige Rostfleckchen
IXa	3 Heringe aus der Mitte der Büchse IX entnommen	»	—	—
IXb	Brühe von IX	»	49,0	—

XV.

druck vor dem Öffnen mit bestem Erfolg geprüft, nur Büchse V ist defekt.

Alter der Büchsen		Volumen der Büchse ccm	Inhalt in ccm	Inhalt in g	Untersucht in g	Sn gefunden	Sn pro Kilo
$3^1/_2$ Jahre	Nach dem Verschließen 10 Minuten gekocht	850,0	909	425	885	94,80	224
$3^1/_2$ »		800,0	856	400	885	71,10	178
$3^1/_2$ »		800,0	855	400	885	102,70	257
$3^1/_2$ »		800,0	856	400	885	79,00	197
mindestens 4 Jahre		250	300 sehr trocken	300	400	83,74	279
mindestens $1^1/_2$ Jahre		—	300	300	460	90,00	300
do.		150 kein N_2O_5	—	150	—	15,80	105
do.		—	400	400	425	37,92	95
do.		—	250	250	470	31,60	126
do.		200 kein N_2O_5	—	200	—	15,80	79
mindestens 13 Monate		c. 5000	205 3 Stück	205 Spur verloren	Die Heringe waren dicht eingepreſst, so daſs nur ein kleiner Luftraum vorhanden gewesen sein kann. 5 Kilodose.	92,43	451
dieselbe Büchse		—	185 3 Stück	185		29,23	158
do.		—	—	250		18,96	76

Wasserstoff von gewöhnlichem Druck, also der entsprechenden kleinen Konzentration, genügt bereits, um Silber aus seinen Salzen metallisch auszuscheiden. Alle Metalle lassen sich demnach in eine Reihe ordnen, die mit dem Metall anfängt, welches den konzentriertesten Wasserstoff zu seiner Ausscheidung braucht, und mit dem endet, die mit dem verdünntesten Wasserstoff im Gleichgewicht ist. Diese Reihe würde am natürlichsten an der Stelle in zwei Stücke geteilt werden, wo die Konzentration des Wasserstoffs gerade dem Atmosphärendrucke entspricht. Es ist dies zwar eine willkürliche Wahl, doch entspricht sie bei weitem der gröfsten Mehrzahl der Fälle, in denen das Verhalten der Metalle geprüft wird oder in Frage kommt.«

»In die erste Abteilung, die der wasserstoffentwickelnden Metalle, gehören zunächst alle Leichtmetalle und von den Schwermetallen die der Eisengruppe. Die Schwermetalle der andern Gruppen gehören meist der zweiten Abteilung an, doch bildet Zinn[1]) eine Ausnahme und Blei steht auf der Grenze. Auf diese Verhältnisse wird bei den einzelnen Metallen näher eingegangen werden.[2])«

»Solche Metalle nun, die sich nicht unter Wasserstoffentwicklung in verdünnten Säuren lösen, werden meist leicht von Salpetersäure gelöst. Dies rührt daher, dafs die Salpetersäure den Wasserstoff, der sich bei der Einwirkung zunächst, wenn auch nur in nicht mefsbaren Spuren bildet, alsbald durch Oxydation in Wasser verwandelt und ihn dadurch aus dem Reaktionsgebiet entfernt. Sie wirkt mit anderen Worten so, dafs sie die Konzentration des Wasserstoffs aufserordentlich niedrig hält und es dadurch dem Metall ermöglicht, weiter in Lösung zu gehen.«

---

1) Soll wohl heifsen Zink, denn Zinn gehört doch nach meinen Untersuchungen in die zweite Abteilung.

2) Ich finde über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Zinnlösung bei Ostwald nichts Besonderes im speziellen Teil des Buches.

7. Woher stammt der Sauerstoff, der zum Lösen des Zinns notwendig ist.

(Freier Sauerstoff, Nitrate.)

Es gibt nur drei Sauerstoffquellen, die in Frage kommen können:

1. Die geringen Mengen, welche in dem Büchseninhalt und in der kleinen in praxi höchstens 50 ccm betragenden Luftschicht darüber enthalten ist;
2. von aufsen durch irgendwelche Undichtigkeiten zutretender Sauerstoff und
3. gebundener Sauerstoff in Form von irgendwelchen chemischen Verbindungen aus den eingeschlossenen Konserven oder dem Kochwasser und den Zusätzen.

Zinn wird von Weinsäure gelöst nach der Gleichung:

$$Sn + O + \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array} = \left.\begin{array}{l} C-OO \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ C-OO \end{array}\right> Sn + H_2O$$

Wir brauchen also für 118 mg Sn: 16 mg Sauerstoff und 150 mg Weinsäure. Oder 1 mg Sauerstoff kann 13,5 mg Zinn in Lösung 6 brauchen, oder 1 mg Zinn braucht 0,074 mg Sauerstoff.

Prüfen wir nun die Sauerstoffmengen, welche nach 1., 2. und 3. zur Verfügung stehen.

1 l Wasser kann bei 20° C 10,9 mg Sauerstoff enthalten, bei 60° C, bei welcher Temperatur die Büchsen zur Sterilisierung angefüllt werden, nur 5,4 mg. Es ist sehr unwahrscheinlich, dafs der Zucker, die Säuren und anderen Bestandteile einer Büchsenfüllung die Sauerstoffaufnahmefähigkeit wesentlich beeinflussen; ein etwaiger Einflufs wird immer im Sinne einer Verminderung wirken.

In dem schädlichen Raum, der auf 800 ccm Flüssigkeit nach einer Reihe von Versuchen, 30—50—60 ccm beträgt, also im Mittel etwa 60 ccm pro 1 l, wird bis zu 12 ccm = 17,7 mg Sauer-

stoff eingeschlossen sein; es stehen also bei einer schwach gefüllten Büchse etwa 5,4 + 17,7 bis 10,9 + 17,7 mg, d. h. rd. 23—28 mg freier Sauerstoff pro l zur Verfügung. Oder es können 310,5 bis 378 mg Zinn pro Kilo gelöst werden.

Wenn gröfsere Zinnmengen gelöst gefunden werden, so mufs noch irgendeine andere Sauerstoffquelle vorhanden sein.

Bei längerer Versuchsdauer liegt es nahe, an die Möglichkeit zu denken, dafs die nicht ganz hermetisch schliefsenden Büchsen allmählich etwas Sauerstoff einlassen an Stelle des absorbierten, da die meist blofs gefalzten Büchsen kaum immer absolut luftdicht geschlossen werden können. Der Gaswechsel durch diese Öffnungen braucht nur sehr langsam zu gehen und diese Sauerstoffquelle nur bei sehr langer Aufbewahrung und nicht bei allen Büchsen in Frage zu kommen.

Ich kann für das Vorkommen undichter Büchsen eine interessante Beobachtung meines Assistenten, Herrn Dr. Krepelka, anführen. Er beobachtete an Konserven von Mirabellen, die in lackierten Blechbüchsen eingeschlossen waren (in etwa 3 Stück unter 30—40) eine ziemlich starke Gärung. Der Inhalt war mit kleinen Gasbläschen durchsetzt und das charakteristische Knistern im Inhalt der Büchse liefs ebenfalls auf eine andauernde lebhafte Gasentwicklung schliefsen. Trotzdem war das Aussehen der Büchsen vor dem Öffnen ganz normal, ohne Vorwölbung der Endflächen, und beim Öffnen verriet kein Geräusch das Entweichen von angesammeltem und in der Büchse unter Druck stehendem Gas.

Generaloberarzt Prof. Dr. E. Pfuhl[1]) hat sich ausführlich mit der Frage beschäftigt, wie die Dichtigkeit verschlossener Büchsen kontrolliert wird oder werden könnte. Aus der Arbeit geht hervor, dafs ihm namentlich bei den gröfseren viereckigen Büchsen mehrfach Undichtigkeiten vorgekommen sind; die kleinen runden Büchsen schliefsen viel sicherer. Im übrigen verweise ich auf das Original.

---

1) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, S. 316.

Um über Vermutungen hinauszukommen, habe ich nach zwei Methoden die Dichtigkeit des Verschlusses von leeren Büchsen kontrolliert, die vorher in einer Konservenfabrik kunstgerecht verschlossen und durch Bombieren, d. h. Vorwölben der Endflächen in heifsem Wasser, als »dicht« erkannt waren:

1. Es wurde auf die Deckel der kunstgerecht verschlossenen leeren Büchsen ein kurzes Kupferrohrstück von dem Durchmesser eines mittleren Gummistöpsels aufgelötet, dann der Deckel im Gebiete dieses Rohraufsatzes durchstochen, ein durchbohrter Gummistöpsel in das Rohrstück eingepafst und unter Anbringung eines seitenständigen Manometers in die unter Wasser getauchte Büchse Luft eingeprefst. Undichtigkeiten verrieten sich durch Gasentweichen. Nach dieser Methode wurden 24 Büchsen untersucht, nur zwei, die vorher bombiert hatten, zeigten bei 14 mm Quecksilberüberdruck eine Durchlässigkeit. Hierauf wurden neun ältere gefüllte Konservendosen genau auf die gleiche Weise geprüft und darunter bei einem Druck von 14 mm Quecksilber nur eine durchlässig gefunden.
2. Es wurde etwas schwach feuchte Bleiazetatwatte in die Büchsen gegeben, dieselben wie gewöhnlich verschlossen, auf Bombieren geprüft und in geräumige Glasgefäfse gestellt, die mit Schwefelwasserstoff gefüllt und verschlossen wurden. Natürlich wurden die Büchsen vor dem Öffnen aufsen gewaschen, abgetrocknet und in einen Raum frei von Schwefelwasserstoff gebracht.

I. Serie. 21 Büchsen von 850 ccm Inhalt wurden der Bombierprobe unterzogen, nur eine bombierte nicht. Nach 40tägigem Aufenthalt in Schwefelwasserstoff zeigte beim Öffnen der Büchsen die Watte in der nichtbombierten und in vier bombierten Büchsen deutliche Schwärzung, die Watte in den anderen war nicht geschwärzt. Also 4 auf 20 oder 20% nicht dichte Büchsen!

II. Serie. 62 Büchsen von 400 ccm Inhalt, aber dem gleichen Querschnitt (8 cm) wie die erste Serie, ergaben bei der Bombierprobe nur eine Büchse, die nicht bombierte. Nach 3 Wochen

geöffnet, waren aufser der nicht bombierten noch zwei andere durch Schwärzung der Bleiwatte als durchlässig erkannt. Also waren von 61 bombierten Büchsen zwei, d. h. 3,3 %, undicht.

Die verschieden guten Resultate der ersten und zweiten Versuchsreihe könnten sich zunächst durch verschiedene Sorgfalt beim Schliefsen der Büchsen erklären, namentlich soll der Apparat zum Schliefsen verschieden genau eingestellt werden können.

Alle diese Versuche zusammen zeigen deutlich, dafs es sehr leicht vorkommen kann, dafs von einer Büchsenserie ein erheblicher Teil zwar genügend dicht schliefst, um zu bombieren, aber nicht dicht genug, um nicht einen bescheidenen Gaswechsel zu gestatten, dafs also die Bombierprobe nicht sehr fein ist.

Als ich nach Verbindungen in den Konserven suchte, die chemisch gebundenen Sauerstoff abgeben könnten, kam ich sofort auf die Nitrate.

Es gibt in der Tat in Vegetabilien weit verbreitet salpetersaure Salze, welche sehr wohl imstande sind, wie ein einfacher Versuch zeigte, auch bei Sauerstoffabschlufs der Weinsäure die Eigenschaft zu erteilen, Zinn zu lösen. Aufserdem ist nicht zu vergessen, dafs bei den Konserven, die mit Hilfe von Wasser bereitet werden, sehr erhebliche Nitratmengen aus dem Wasser in den Büchseninhalt gelangen können.

Nach Sutter und Alwens finden sich in 100 g Trockensubstanz von

Roten Rüben	1,92 g	Salpetersäure
Weifsen »	1,89 g	»
Runkelrüben	1,67 g	»
Kopfsalat	1,62 g	»
Erdkohlraben	1,18 g	»
Blumenkohl	1,18 g	»

Der Gehalt an Nitraten hängt von dem Salpetergehalt des Bodens, der Düngung und auch der Witterung stark ab. Im Maximum fanden die genannten Forscher in der weifsen Rübe 3,5 %, in der roten Rübe 2 %, im Mais 0,55 % Salpetersäure in der Trockensubstanz.

Über den Nitratgehalt an Früchten habe ich nichts gefunden.[1])

Eigene Untersuchungen über den Nitratgehalt von Vegetabilien, insbesondere von Früchten, ergaben folgendes:

Mit Diphenylamin und Schwefelsäure erhielt ich beim Einbringen kleiner Fragmente des frischen Vegetabils Reaktion mit folgenden Knollen und Zwiebeln:

Radieschen	sehr stark
Rettich	sehr stark
Kohlrabi	sehr stark
Rote Rübe	sehr stark
Kartoffelschale	kräftig
Gelbe Rübe I	sehr stark
Gelbe Rübe II	negativ
Zwiebel	sehr stark
Lauch	schwach.

Stengel und Blätter wurden untersucht mit folgenden Resultaten:

Lauchblatt I	sehr schwach
Lauchblatt II	sehr deutlich
Spargel	negativ (mehrmals)
Kohlrabiblattstiel	schwach
Sellerieblattstiel	schwach
Radieschenblattstiel	deutlich
Spinatblattstiel	schwach
Gelbe Rübeblattstiel	deutlich
Mangoldblattstiel	sehr stark
Rote Rübeblattstiel	sehr stark
Blumenkohlstengel	sehr stark
Blumenkohlblattschuppen . .	schwach
Blumenkohlblütenknospen . .	negativ.

[1]) Vgl. E. Ebermayer, Physiologische Chemie der Pflanzen. Berlin 1882. S. 67, wo sich zahlreiche Analysen finden. Weitere Literatur gaben E. und H. Schulze und H. Grouven in: ›Landwirtschaftliche Versuchsstationen‹. Bd. 8 und 9. Ökonomische Fortschritte 1867. S. 97.

Besonders habe ich mir die Untersuchung von Früchten angelegen sein lassen:

Gurken (äufserste Fruchtschicht) .	positiv
Gurken (Inneres)	negativ
Erbsen (Schote).	sehr schwach positiv
Erbsen (Samen)	mehrmals negativ
Grüne Bohnen	sehr stark positiv.

Alle Untersuchungen mit Obst verliefen durchweg negativ und zwar sind untersucht: Rote und schwarze Süfskirschen und Sauerkirschen, rote und gelbe Pflaumen, Birnen, Orangen, Aprikosen, Stachelbeeren, Johannisbeeren, Erdbeeren, Heidelbeeren, Himbeeren, japanische Mispeln.

Die Untersuchung wurde mehrfach ausgeführt, teils mit kleinen, frischen Fruchtstückchen direkt, teils mit Prefssaft, teils mit filtrierten Abkochungen und endlich mit Dialysaten der Prefssäfte. Ebensowenig erhielt ich ein Resultat, als ich Fruchtsaft (Heidelbeere, Himbeere) kochte, filtrierte, mit Bleiazetat und einer Spur Ammoniak fällte und das Filtrat entbleite.

Setzt man einem frischen, durch Abkochung der Früchte mit etwas Wasser und Filtrieren erhaltenen Fruchtsaft etwas Nitratlösung zu und reinigt ihn nachher mit Bleiazetat, Ammoniak und Soda, so ist in 1 ccm des annähernd farblosen Filtrats Nitrat nur nachweisbar, wenn pro 1 l bei Heidelbeeren 40 mg Natriumnitrat, bei Himbeersaft mindestens 100 mg zugesetzt sind.

Bereitet man zuerst durch Kochen der Früchte mit Wasser einen starken Fruchtsaft und setzt dann Nitrat zu, so gelingt der Nachweis nach der Diphenylaminmethode unter Verwendung von 1 ccm Saft, wenn 50 mg $NaNO_3$ im Liter enthalten sind. Auch nach 6stündigem Stehen des nitrathaltigen Fruchtsafts tritt die Reaktion ein. Besondere Versuche zeigten uns, dafs in 20proz. Zuckerlösung noch 100 mg $NaNO_3$ pro 1 l sicher nachweisbar sind. Bei 50 mg pro 1 l wird der Nachweis zweifelhaft.

Auch den Nachweis der Nitrate nach dem neuen Verfahren von Busch durch Fällung mit »Nitron« (Diphenylendanilodihydrotriazol) haben wir versucht.

Das käufliche Reagens wurde vorschriftsmäfsig zu 10% in 5proz. Essigsäure gelöst und so eine blafsviolette Lösung erhalten.

In reinen Nitratlösungen erhält man noch deutliche Niederschläge bei 30 mg Natriumnitrat im Liter, wenn man 1—2 ccm zur Reaktion verwendet, einige Tropfen Schwefelsäure zusetzt, aufkocht, einige Tropfen Reagens zugibt und abkühlt. Wollte man schwächere Lösungen untersuchen, so müfste man sie eindampfen; gröfsere Mengen, etwa von 60 mg im Liter ab, geben prachtvolle Niederschläge. Zuckerzusatz von 20% macht die Reaktion unsicherer, doch erhielten wir bei 80 mg $NaNO_3$ im Liter noch deutlich positive Reaktion, bei 40 mg im Liter war die Reaktion sehr zweifelhaft bei Verwendung von 1—2 ccm Nitratlösung.

Um in Fruchtsäften eine Nitronfällung zu erhalten, mufs man dem frisch gekochten Heidelbeersaft pro 1 l 310 mg Natriumnitrat zusetzen; bei Himbeersaft war noch bei 180 mg pro 1 l die Reaktion positiv. In mit Bleiazetat, Ammoniak und Soda gereinigten Fruchtsäften aus Heidelbeeren und Himbeeren, denen vor dieser Behandlung (im frischen Zustande) Nitrat zugesetzt worden war, wurde dieses erst bei 250 mg im Liter unzweifelhaft nachweisbar.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dafs meine negativen Resultate bei der Untersuchung von Obst auf Nitrate nicht beweisen, dafs kein Nitrat da ist, nur dafs die Mengen kleiner als etwa 50 mg im Liter sind. Es wurden eigentlich in keinem Pflanzenteil, den man in Blechbüchsen aufzubewahren pflegt, aufser grünen Bohnen nennenswerte Nitratmengen gefunden. Zweifelhaft bleibt es mir allerdings, ob nicht Spargel gelegentlich bei geeigneter Düngung nitrathaltig resp. nitratreich werden. Doch schien es unter allen Umständen der Mühe wert, den Einflufs der Nitrate auf die Zinnlösung zu untersuchen.

Wie reagiert nun Zinn mit Salpetersäure?

Es ist wohl nicht zu bezweifeln, dafs zunächst die Reaktion auftritt

$$NO_3H + Sn = NO_2H + SnO.$$

Es ist mir aber nur im Anfang unserer Untersuchungen gelungen, salpetrige Säure beim Schütteln von Zinn mit Weinsäure und Nitrat zu finden. Später mifslang die Reaktion, ob ich Schwefelsäure oder Weinsäure anwendete.

Nach der Literatur tritt aus Zinn und Salpetersäure auch Ammoniak und Hydroxylamin auf, was folgende Gleichungen veranschaulichen:

$$NO_3H + Sn = SnO + NO_2H$$
$$NO_2H + 2\ Sn + H_2O = 2\ SnO + NOH_3$$
$$NOH_3 + Sn = NH_3 + SnO$$

Es würde dies bedeuten, dafs 1 NO_3H 4 Sauerstoff lieferten und 4 Atome Zinn zu Zinnoxyd oxydieren.

$$1\ N_2O_5 = 2\ NO_3H = 2\ NH_3 = 8\ O = 8\ Sn$$
$$1\ \text{mg}\ N_2O_5 = 1{,}2\ \text{mg Sauerstoff} = 8{,}9\ \text{mg Zinn}$$
$$= 0{,}31\ \text{mg Ammoniak},$$
$$1\ \text{mg Sauerstoff} = 0{,}27\ \text{mg Ammoniak} = 7{,}4\ \text{Zinn}$$
$$1\ \text{mg Ammoniak} = 287\ \text{mg Zinn}.$$

Es wurde zunächst ein Orientierungsversuch angestellt: Es wurden in zwei Proben von je 100 ccm 1,5 proz. Weinsäure 0,170 g Natriumnitrat (= 0,108 g N_2O_5) gelöst und 100 qcm Zinnblech (auf beiden Seiten gemessen) eingestellt. Das eine Gläschen wurde ganz gefüllt und vom Sauerstoff abgeschlossen, das andere offen stehen lassen. Nach 6 Tagen Stehen bei Zimmertemperatur enthielten:

das offene	Gläschen	2,27 mg NH_3	und deutlich Nitrit
» verschlossene	»	0,51 mg NH_3	» » »

Die Möglichkeit, dafs das offene Gläschen etwas Ammoniak aus der Luft aufgenommen haben kann, ist nicht zu bestreiten, immerhin ist beim geschlossenen Gläschen die Reduktion der Salpetersäure bis zum Ammoniak unzweifelhaft.

Spätere quantitative Ergebnisse lauteten:

Es wurden zweimal 100 qcm Zinn mit je 170 mg NO_3Na und 500 ccm 1 proz. Weinsäure in eine ½-Literflasche luftfrei eingeschlossen (Flasche B und C) und zweimal die gleiche Mischung in eine halbvolle Literflasche eingeschlossen (Flasche B) und die Literflasche öfters umgeschüttelt und der Stöpsel gelüftet. Die Untersuchung ergab:

Tabelle XV.

	mit Luftzutritt			ohne Luftzutritt	
	Nach 4 Wochen:				
I.	1,98 mg NH_3 Kein Nitrit.	(A)	III.	2,08 mg NH_3 Kein Nitrit.	(B)
	Nach 8 Wochen:				
II.	3,01 mg NH_3[1] Kein Nitrit.	(A)	IV.	2,52 mg NH_3 Kein Nitrit.	(C)

Aus dem ganzen Nitrat hätten 34 mg NH_3 entstehen können, es geht also die Nitratreduktion unter den gewählten Bedingungen nur sehr langsam bis zum Ammoniak vor sich.

In einer Bestimmung (Nr. IV) wurde auch das gelöste Zinn bestimmt und 91,6 mg gefunden, die 12,4 mg Sauerstoff zur Lösung brauchen, die entstehen, wenn 10,3 mg N_2O_5 3,2 mg Ammoniak liefern. Die gefundenen 2,52 mg Ammoniak entsprechen (s. unten) $\frac{2,52}{0,27} = 9,6$ mg Sauerstoff und die übrigen 2,8 mg waren gasförmig in den 500 ccm Wasser gelöst.

In einem dritten Versuch wurde blofs die Lösung des Zinns mit und ohne Nitratzusatz zur Weinsäure untersucht (Tab. XVI).

Ein vierter Versuch ermittelte Zinnlösung und Ammoniakbildung bei gleichzeitiger Anwesenheit von Weinsäure, Nitrat und Zinn und prüfte die Wirkung des Zuckers auf den Vorgang. (Tabelle XVII.)

---

[1]) Diese Zahl ist zu grofs. Sie wurde gewonnen durch Analyse von 250 ccm, die in Flasche A nach der ersten Analyse noch weitere 4 Wochen gestanden hatten. Während dieser zweiten Versuchshälfte war das Verhältnis von Zinnfläche zu Flüssigkeitsmenge doppelt so grofs als in den drei übrigen Proben. Es ist damit wohl auch erklärt, dafs die Ammoniakmenge, die bei C gegenüber B um 5 mg zunahm, sich in A um 10 gegenüber Analyse I gehoben hat.

Tabelle XVI.

Einflufs der Nitrate auf die Löslichkeit von 100 qcm Zinn in 500 ccm Weinsäure, fest verschlossen in 6 Wochen:

	1 % Weinsäure	1 % Weinsäure + 10 mg N_2O_5	1 % Weinsäure + 50 mg N_2O_5	1 % Weinsäure + 200 mg N_2O_5
Zinn in mg . .	4	23	37	116
Aussehen des Zinns . . .	ganz blank	blank	Spur graulich	stärker grau

Das wäre für Büchsen mit 410 qcm Oberfläche und 850 ccm Inhalt, wenn man die Löslichkeit als der Oberfläche proportional annimmt und auf 1000 umrechnet, etwa:

Zinn in mg . .	19	111	178	559

Tabelle XVII.

100 qcm Zinn 500 ccm Weinsäure, fest verschlossen 6 Wochen aufbewahrt:

	1 % Weinsäure	1 % Weinsäure + 50 N_2O_5	1 % Weinsäure + 200 N_2O_5
Zinn in mg	13	25	144
Ammoniak in mg . .	—	2,7	4,8
	1 % Weinsäure 20 % Rohrzucker	**1 % Weinsäure 20 % Rohrzucker 50 N_2O_5**	**1 % Weinsäure 20 % Rohrzucker 300 N_2O_5**
Zinn in mg	16	26	66
Ammoniak in mg . .	—	3,0	4,0

Durch Reduktion des Nitrats zu dem gefundenen Ammoniak hätten gelöst werden können:

a) ohne Zucker 17,5 (durch 2,7 Ammoniak)
» » 137 (» 4,8 »)
b) mit Zucker 86 (» 3,0 »)
» » 115 (» 4,0 »)

Also ist durch die Nitratreduktion auch hier der erforderliche Sauerstoff wirklich beschafft.

Der Zucker ist auf die Nitratreduktion von zweifelhaftem Einflufs, auf die Zinnlösung wirkt er hemmend (s. unten).

Während unserer Untersuchungen sind auch über den Einflufs der Nitrate auf die Lösung des Bleis interessante Studien veröffentlicht, die mir aber erst nach Abschlufs meiner Arbeiten bekannt wurden.

Ružička hat in einer kurzen aber wertvollen Studie gezeigt, dafs Nitrate die Bleilösung eines Wassers sehr erhöhen, ohne zu versuchen, diese — auch früher schon von einzelnen Autoren gemachte — Beobachtung zu erklären. Der Autor läfst es auch unentschieden, ob überhaupt Blei von ganz luftfreiem Wasser gelöst werde, während er die mächtige Förderung der Bleilösung durch Luft anerkennt. (A. f. H. XL, S. 44.)

Fortner (A. f. H. LIV, 329) hat ebenfalls eine Beobachtung gemacht, die für die Bedeutung der Nitrate für Bleiaufnahme spricht. Er macht aufserdem auf eine Stelle bei Schönbein aufmerksam, in der dieser Forscher schon 1861 die Reduktion von Alkalinitraten durch Blei, Kadmium, Zink, Kalium und Natrium beschrieben hat, während er keine reduzierende Wirkung von Eisen, Zinn und Aluminium finden konnte. Den Vorgang der Bleilösung denkt sich Fortner folgendermafsen:

»Die im Wasser vorhandenen HO-Jonen (von der Jonisation des Wassers herstammend) und die aus den Nitraten stammenden NO_3-Jonen wirken bleilösend, der hierdurch disponibel werdende Wasserstoff hat nun Gelegenheit, auf einen Teil der vorhandenen Nitrate reduzierend zu wirken und dadurch die Bildung von salpetriger Säure bzw. Nitriten zu veranlassen.« An anderer Stelle spricht es der Autor nochmals aus, dafs er es für nicht notwendig hält, im destillierten Wasser gelösten Sauerstoff zur Lösung des Bleis anzunehmen, er betrachtet die schwache Jonisierung des destillierten Wassers als ausreichend zur Erklärung der geringen Bleilösung durch ausgekochtes Wasser.

8. Läfst sich der in Konserven beobachtete Zinngehalt nach dem Vorliegenden verstehen?

Wir sahen, dafs — auf 1 Kilo Flüssigkeit ausgerechnet — etwa 23—28 mg freier Sauerstoff zur Verfügung steht, der etwa 310—378 mg Zinn pro Kilo lösen kann — die höchste Zahl, die

ich selbst für 1 Kilo Fruchtsaft gelöst fand, war 339 —, wir können also unsere Zahlen alle erklären durch den freien Sauerstoff allein, ohne Annahme einer Undichtigkeit der Büchsen oder Zuhilfenahme der Nitrate.

Die höchsten Zahlen, die mir überhaupt bekannt sind, sind — selbstgefunden — 450 mg Zinn für die Randpartien der lang aufbewahrten Delikatefshäringe, aus der Literatur 404 und 600 mg in Spargel, 600 mg in Brombeeren.

Keine dieser Zahlen macht Schwierigkeiten, sowie wir annehmen, dafs Nitrate im verwendeten Wasser oder Kochsalz vorhanden waren, jedes mg N_2O_5 pro l erklärt uns je 8,9 mg Zinn, Wässer mit 100 mg N_2O_5 sind durchaus nicht selten, und die Zeit, um genügend Nitrat zu reduzieren, ist ja in alten Konserven reichlich gegeben.

Die Nitrate werden wir wohl namentlich da zur Erklärung heranziehen dürfen, wo viel Wasser verwendet wird. Die Fruchtsäfte sollen nur sehr wenig Wasser enthalten (etwa 10—20%), aber Kompottfrüchte werden erst in Wasser gedünstet und dann in Zuckerwasser eingelegt, wodurch etwa 40% Wasser in die Büchse kommt, ebenso ist es mit Erbsen, Spargel usw.

Auffallend wird auf den ersten Blick erscheinen, dafs auch so schwach saure Flüssigkeiten, wie Spargelbrühe, Zinn lösen. Bedenken wir aber, dafs 1 ccm Normalsäure schon für $\frac{118}{2} = 59$ mg Zinn ausreicht, dafs also 4 ccm Normalsäure genügen, um die ganzen 200—250 mg Zinn in 1 l Spargelkonserve zu lösen, so wird uns dies beruhigen.[1]) Dabei ist weiter zu beachten, dafs die Spargelstengel etwa dreimal so zinnreich sind wie die Spargelbrühe, was wohl so gedeutet werden darf, dafs die durch die schwache Säure der Brühe gelöste Zinnmenge immer wieder durch die Albuminate der Stengel ausgefällt wird, wodurch neue Säuremengen zur Zinnlösung verfügbar werden.

[1]) Die Azidität der Spargelbrühe ist etwa einer $\frac{1}{100}$ Normalsäure entsprechend. Enthalten 1000 ccm Spargel und Brühe 400 ccm Brühe, so entspricht dies 4 ccm Normalsäure.

Hier mag auch angeführt sein, dafs ein Kochsalzzusatz die Zinnlösung der Weinsäure sehr beschleunigt.

Es tauchten diesmal 100 qcm Zinn (auf beiden Seiten gemessen) in nur 100 ccm Flüssigkeit, in den Proben ohne Luftzutritt war das Fläschchen klein und vollständig gefüllt, in den anderen Proben tauchte das Zinn zwar auch ganz unter, aber es stand reichlich Luft über dem Flüssigkeitsspiegel, da eine grofse Flasche verwendet wurde.

Tabelle XVIII.
100 ccm Flüssigkeit und 100 qcm Zinn liefern in 4 Wochen:

	In 100 ccm sind 4% NaCl	In 100 ccm sind 4% NaCl + 20 ccm Normalweinsäure	In 100 ccm sind 20 ccm Normalweinsäure
Ohne Luftzutritt . .	2,2	5,8	3,9
Mit Luftzutritt . . .	5,7	241,5	106,0

Aber auch zu dieser Lösungsverstärkung ist Luft resp. Sauerstoff nötig.

9. Über den Einflufs des Öffnens der Konservenbüchsen mit vegetabilischem Inhalt auf den Zinngehalt des Inhalts. Wirkung des Zuckers und der Viskosität.

Da Luftzutritt für die Zinnlösung ein mafsgebender Faktor ist, so war zu prüfen, inwieweit eine Zunahme des Zinngehalts im Büchseninhalt eintritt, wenn man Büchsen offen stehen läfst.

Als Vorversuch diente eine Reihe, bei der 100 qcm Zinn (die Oberfläche beider Seiten gerechnet) in offene Gläser eingestellt wurden, welche je 100 ccm Weinsäurelösung enthielten. Das Zinnstück ragte eine Spur über den Flüssigkeitsspiegel empor.

Tabelle XIX.

				nach 8 Tagen	nach 14 Tagen
I.	Weinsäure	1/100	0,075 %	= 27,9 mg	= 38,3 mg,
II.	»	1/20	0,375 %	= 84,9 »	= 111,4 »
III.	»	1/10	0,75 %	= 116,7 »	= 212,6 »
IV.	»	1/5	1,5 %	= 175,7 »	= 356,0 »
V.	»	1/2	3,75 %	= 293,5 »	= 530,9 »
VI.	Normalweins.		7,5 %	= 346,2 »	= 817,7 »

Das würde für Büchsen mit 410 qcm Oberfläche und 850 ccm Inhalt, wenn ich annehme, dafs die Lösung der Zinnoberfläche proportional ist und auf 1000 umrechne, etwa ergeben:

				nach 8 Tagen		nach 14 Tagen
I. Weinsäure	$^1/_{100}$	0,075 %	=	134 mg	=	183 mg,
II. »	$^1/_{20}$	0,375 %	=	409 »	=	535 »
III. »	$^1/_{10}$	0,75 %	=	564 »	=	1027 »
IV. »	$^1/_5$	1,5 %	=	849 »	=	1717 »
V. »	$^1/_2$	3,75 %	=	1417 »	=	2549 »
VI. Normalweins.		7,5 %	=	1669 »	=	3946 »

Diese Zahlen dürften etwas zu grofs sein, denn der Sauerstoff dringt in den tiefen Büchsen nicht so leicht zum Grunde wie in den weniger tiefen Bechergläsern.

Immerhin zeigen aber diese Zahlen unzweifelhaft, dafs bei allen hier gewählten Konzentrationen der Säure mit der Dauer des Versuches auch die Menge des gelösten Zinns steigt, und zwar um so stärker, je konzentrierter die Säure.

Nun wurden eine Anzahl gekaufter Büchsen mit verschiedenartigem Inhalt geöffnet, die Azidität und der Zinngehalt ihres Inhalts bestimmt, die teilweise entleerten Büchsen liefs man im Laboratorium stehen und analysierte ihren Inhalt nach 8 und 14 Tagen wieder.

Die ziemlich überraschenden Resultate der Untersuchung gibt folgende Tabelle:

Tabelle XX.

Auf 1000 ccm umgerechnet:

	Azidität	= Weinsäure	Frisch	Nach 8 Tagen	Nach 14 Tagen
Johannisbeersaft[1] (Büchse innen lackiert)	$^1/_5$ Normalsäure	1,5 %	39 mg	46 mg	—
Spargel (Brühe u. Stengel gemischt) (Büchse nicht lackiert)	$^1/_{100}$ Normalsäure	0,075 %	103 »	153 »	181 mg

Die Zahlen sind das Mittel von je 2 gut übereinstimmenden Kontrollversuchen.

1) richtiger Johannisbeersirup vgl. S. 70.

Spargel haben in der Zinnbüchse, offen stehend, somit in 8 Tagen 50 mg, in 14 Tagen 78 mg gelöst — recht erheblich weniger als eine wässerige reine $^{1}/_{100}$ Weinsäurelösung, welche in 8 Tagen 134, in 14 Tagen 183 mg löste.

Die geringe Zinnlösung des Johannisbeersaftes erklärt sich einstweilen einfach durch die Lackierung der Büchse. Um die zinnlösende Kraft des fraglichen Johannisbeersaftes sicherzustellen, wurden 100 ccm desselben in ein Becherglas gefüllt und 100 qcm reines Zinnblech bei Luftzutritt eingetaucht, es lösten sich auch so in 8 Tagen nur 33,7 mg, eine merkliche aber gegenüber den Werten von Tabelle XIX (175,7 mg!) auffallend kleine Menge.

Es unterlag sofort keinem Zweifel, dafs wir bei den pflanzlichen Konserven einem neuen Faktor gegenüberstanden, der hemmend auf die Zinnlösung wirkt.

Es schien von vornherein namentlich zweierlei möglich:

1. Es beeinflufst die Viskosität der Fruchtsaftlösung die Bewegung der Flüssigkeit in den Büchsen ungünstig. Während eine Weinsäurelösung, die die Büchse ganz ausfüllt, fortwährend in durch Temperaturdifferenzen verursachter Bewegung ist, wird diese Bewegung, dank Klebrigkeit und Zähflüssigkeit der Lösung, gehemmt. Es bleiben also viel mehr als wie in reinen wässerigen Lösungen die gleichen Säureteilchen längere Zeit mit der Wandung in Berührung, auch der Sauerstoff dringt schwerer ein.

2. Es kommt allein auf gewisse chemische Bestandteile des Büchseninhalts an, namentlich schien es möglich, dafs der Zucker die Zinnlösung stört.[1])

Um diese Frage zu entscheiden, wurden spezielle Versuche mit Fruchtsaft, dann mit Weinsäure derselben Azidität ohne und mit Zugabe von Rohrzucker resp. Kapillärsirup resp. Agar und schliefslich Gelatine angestellt.

1) Die störende Wirkung des Zuckers auf die Lösung des Kupfers habe ich schon vor Jahren einer experimentellen Untersuchung unterworfen.

Kapillärsirup wird den Fruchtsäften des Handels in sehr erheblichen Mengen zugesetzt. Kapillärsirup (Kartoffelstärkesirup) bezog ich von einer grofsen Konservenfabrik als ungemein dickflüssige, farblose, wenig süfse, in der Kälte sehr zähe, in der Wärme leidlich flüssige Masse vom spezifischen Gewicht 1,4 bei 73°. Bei niedrigeren Temperaturen stiefs die Bestimmung mit dem Areometer auf Schwierigkeiten wegen der aufserordentlichen Klebrigkeit der Masse. So hatte ich also im Kapillärsirup, der eine sehr stark dextrinhaltige Zuckerlösung darstellt, einen zuckerhaltigen und gleichzeitig sehr viskösen Stoff. Er soll enthalten 50—75% Dextrose und 16—30% Dextrin, aufserdem etwas Maltose, Asche und nach unserer Analyse 13,8% Wasser. Starke Rohrzuckerlösungen allein sind zuckerreich, ohne viskös zu sein.

Zur Anstellung der Versuche bedienten wir uns kleiner Bechergläser von ca. 200 ccm Volumen. Die Zinnplättchen waren darin so eingestellt, dafs jedesmal gerade 100 qcm Oberfläche auf beiden Seiten zusammen in die Lösung eintauchten, während ihr freier Rand einige Millimeter über den Flüssigkeitsspiegel herausragte. Die Lösungen bestanden teils aus reinem käuflichen Johannisbeersaft, teils aus gleichstark sauren Weinsäurelösungen, aus einem Gemisch von Kapillärsirup und Weinsäurelösungen mit und ohne Zuckerzusatz und schliefslich aus einem Gemisch von Weinsäure und Gelatine, und Weinsäure und Agar. Alle Lösungen waren auf 100 ccm Volum gebracht und gut gemischt, was bei der Dickflüssigkeit des Sirups nicht ohne Schwierigkeit zu erreichen war. Es waren folgende Proben aufgestellt:

I. 100 ccm Fruchtsaft von der Azidität 17.
II. 17 ccm Norm.-Weinsäure + 83 ccm Wasser
III. 17 » » » + 30 » Kap.-Sir. + 53 ccm Wasser
IV. 17 » » » + 50 » » + 33 » »
V. 17 » » » + 60 » » + 23 » »
VI. 17 » » » + 70 » » + 13 » »
VII. 17 » » » + 83 » »
VIII. 17 » » » + 30 » » + 20 g Rohrzucker + Wasser = 100 ccm
IX. 17 » » » + 30 g gelöst. Rohrzuck. + Wasser = 100 ccm
X. 17 » » » + 20 proz. Gelatinelösung = 100 »
XI. 17 » » » + 2 proz. Agar = 100 »

Die Lösungen von 30 g Zucker sind nicht viskös, von 30 ccm Kapillärsirup schwach viskös, von 50 ccm ab stark viskös, etwa wie Fruchtsaft. Die Gelatine und der Agar waren fest erstarrt; die Zinnstücke wurden eingeführt, ehe die Erstarrung eintrat.

Sämtliche Proben wurden doppelt angesetzt.

Nach 8 Tagen wurden die Zinnstückchen herausgenommen und das gelöste Zinn bestimmt.

Es darf nicht weiter wundernehmen, dafs die Resultate der Kontrollen bis zu 4 mg auseinandergehen, da es ungemein schwierig war, gerade 100 qcm der Zinnplättchen in die Lösungen eintauchen zu lassen, da ja bei der geringsten Erschütterung und einem notwendig werdenden Transporte kleine Verschiebungen eintreten mufsten, so dafs dadurch den Flüssigkeiten vielleicht eine etwas gröfsere oder geringere Angriffsfläche geboten wurde. Die Resultate folgen tabellarisch.

Tabelle XXI.

Einflufs des Zuckergehaltes und der Viskosität des Lösungsmittels auf die Löslichkeit von Zinn.

In 100 ccm Flüssigkeit			
sind außer dem zum Auffüllen auf 100 ccm nötigen Wasser	finden sich nach 8 Tagen gelöst mg Sn		
	Analyse A.	Analyse B.	Mittelwerte
17 ccm Normalweinsäure	99,8	104,5	102,1
17 » » + 30 g Rohrzucker	55,0	51,9	53,4
17 » » + 30 ccm Kapillärsirup	51,09	48,7	49,9
17 » » + 30 » » + 20 g Rohrzucker	30,6	30,6	30,6
17 » » + 50 ccm Kapillärsirup	37,7	36,9	37,3
17 » » + 60 » »	26,7	28,2	27,4
17 » » + 70 » »	18,8	17,2	18,0
17 » » + 83 » »	5,5	7,8	6,6
100 » käuflicher Johannisbeersaft (ohne Wasserzusatz)	11,7	9,4	10,5
17 » Normalweinsäure + 20 g Gelatine	16,5	15,7	16,1
17 » » + 2 g Agar	113,9	110,04	111,9

Die Ergebnisse der ersten 8 Proben zeigen, dafs die Löslichkeit des Zinns ungefähr in demselben Mafse abnimmt, als die Konzentration des Kapillärsirups steigt, und dafür konnte ja die zunehmende Viskosität im Verein mit dem Steigen des Zuckergehaltes anzuschuldigen sein. Allerdings ist es schon höchst auffallend, dafs Lösungen, die blofs aus Weinsäure und zuckerhaltigem Wasser bestehen, und die durchaus nicht viskös sind, die Zinnlöslichkeit auf fast die Hälfte reduzieren im Vergleich zu den gleichstark sauren Weinsäurelösungen ohne Zuckerzusatz.

Wie aber soll man es sich erklären, wenn eine Probe, die aufser Weinsäure nur Agar enthält und infolgedessen zu einer gallertigen Masse erstarrt war, wo also eine Verschiebung der einzelnen Teile durch Wärmedifferenzen völlig ausgeschlossen war, eine Zinnmenge zur Auflösung bringt, die sogar diejenige gleichstark saurer Weinsäurelösungen etwas übertrifft?

Dieses eine Resultat beweist uns zur Genüge, dafs nicht die Viskosität der zuckerhaltigen Lösung das entscheidende Hindernis für die Zinnlösung sein kann. Der Zuckergehalt einer Lösung allein ist von gröfstem Einflufs für die Menge des aufzulösenden Zinns.

Ich beziehe demgemäfs die geringe Zinnlösung des offen stehenden süfsen Fruchtsaftes auf die Anwesenheit gröfserer Zuckermengen.

Die enorm hemmende Wirkung der Gelatine läfst sich ganz ungezwungen durch ihre säurebindende Eigenschaft erklären.

Tabelle XXII.

Einflufs von Zucker, Quittenschleim und Agar auf die Lösung von Zinn in Weinsäure.

Zinn gelöst in Milligramm in 8 Tagen:

A.: 100 qcm Zinn tauchen in 100 ccm Flüssigkeit ein, 1 cm ragt heraus. In den 100 ccm Flüssigkeit sind enthalten:

17 ccm Normal-weinsäure		17 ccm Normal-weinsäure + 20% Zucker		17 ccm Normal-weinsäure + 2% Agar		17 ccm Normal-weinsäure + Quittenschleim[1]	
a	b	a	b	a	b	a	b
146	124	67	64	177	169	95	84

1) Der Quittenschleim enthielt 0,6% feste Bestandteile.

B.: 100 qcm Zinn tauchen in 100 ccm Flüssigkeit 1 cm tief unter.

17 ccm Normalweinsäure		17 ccm Normalweinsäure + 20% Zucker		17 ccm Normalweinsäure + 2% Agar		17 ccm Normalweinsäure + Quittenschleim [1])	
a	b	a	b	a	b	a	b
48	52	38	39	15	14	14	16

Einige weitere Versuche ergaben:

Tabelle XXIII.

Zinngehalt des Lösungsmittels nach 4—5 Tagen Stehens bei Luftzutritt.

Lösungsmittel	Gelöstes Zinn in mg	Lösungsmittel	Gelöstes Zinn in mg
83 ccm 2proz. Agar + 17 ccm Normalweinsäure	122 119	83 ccm dicke Gummilösung + 17 ccm Weinsäure	68
63 ccm 2proz. Agar + 17 ccm Normalweinsäure + 20 g Rohrzucker	86 92	63 ccm dicke Gummilösung + 17 ccm Weinsäure + 20 g Rohrzucker	40
83 ccm Wasser + 17 ccm Normalweinsäure	110[2])	83 ccm dicker Quittenschleim + 17 ccm Weinsäure	110
		63 ccm Quittenschleim + 17 ccm Weinsäure + 20 g Rohrzucker	102

Tabelle XXIV.

Zinngehalt des Lösungsmittels nach 20 Std. Stehen im Brutschrank b. Luftzutritt.

Lösungsmittel		Gelöstes Zinn in mg
17 ccm Normalweinsäure a	alles mit Wasser auf 100 ccm gebracht.	40
17 » » b		41
17 » » + 20 g Dextrose .		18
17 » » + 40 » »		11
17 » » + 20 » Rohrzucker		26
17 » » + 40 » »		10
17 » » + 20 » Dextrin		23
17 » » + 40 » »		24

1) Der Quittenschleim enthielt 0,6% feste Bestandteile.

2) Die Zahl 110 ist nicht durch Analyse gefunden (die betreffende Probe verunglückte), sie ist aber mit grofser Sicherheit auf etwa 5 mg genau einzusetzen.

Diese vier Versuchsreihen lehren ganz deutlich:

Bei Zinnblechstücken, die aus dem Lösungsmittel herausragen, gibt es zwei Faktoren, welche die Lösung stören:

a) Der Zuckergehalt der Flüssigkeit, und zwar vermindern 20% Rohrzucker oder Traubenzucker die Zinnlösung etwa auf die Hälfte, 40% Zucker etwa auf ein Viertel. Zuckerlösungen von 20% sind noch wenig viskös, ihre Wirkung kann nicht auf der Viskosität beruhen.

b) Die Viskosität der Flüssigkeit. Diese ist von bescheidener, ja zweifelhafter Bedeutung bei den herausragenden Stücken. Nur in der Tabelle XXII A hat der Quittenschleimzusatz die Zinnlösung durch Säure von 135 auf 90 herabgesetzt, ähnlich hat in Tabelle XXIII die Gummilösung gewirkt.

Eine 2proz. Agarmischung löste, obwohl sie ganz fest und starr ist, mehr Zinn als die entsprechende wässerige Weinsäure: 112 gegen 102, 173 gegen 135, während doch die Flüssigkeitsbewegung enorm durch die Beimengung des Agars gestört war. Ich möchte glauben, dafs der Agar doch etwas stören mufs, dafs er aber durch irgendeinen uns noch unbekannten Mechanismus gleichzeitig die Lösung begünstigt. Sicher ist, dafs am Agar eine Anzahl schwärzlicher gelockerter Zinnteilchen hängen bleibt, welche bei den in wässerige Weinsäure tauchenden Blechen am Blech haften aber abreibbar sind, vielleicht wird nur dadurch die Agarzahl erhöht, ob dies allerdings genügt zur Erklärung obiger Zahlen, mufs dahingestellt bleiben. Hierüber sind besondere Versuche nötig.

Bei Zinnblechstücken, welche mindestens 1 cm unter der Oberfläche der Weinsäure eingetaucht liegen, ist die Hemmung durch die Viskosität der Flüssigkeit viel stärker als durch den Zucker!

Offenbar hemmt die Viskosität nicht sowohl durch Störung der Flüssigkeitszirkulation als durch Hemmung des Eindringens des Sauerstoffs, der Zucker hat dagegen eine spezifisch hemmende Wirkung.

Als ich mit meinem Freunde Prof. A. Hantzsch über den merkwürdigen Einflufs des Zuckers auf die Angreifbarkeit des Zinns durch Weinsäure sprach und ihn fragte, ob etwa die

Jonisierung der Weinsäure durch Zucker beeinflufst sein könnte, verwies er mich auf eine Publikation von ihm [1]), in der nachgewiesen ist, dafs in der Tat Rohrzucker die Leitfähigkeit, also die Jonisierung der Salzsäure, um etwa 2% herabsetzt. Wesentlich stärker wird die Leitfähigkeit der Schwefelsäure durch Traubenzucker vermindert (um etwa 20%), und Hantzsch nimmt an, dafs wohl Schwefelsäure als mehrbasische Säure von geringer Dissoziationstendenz durch Fremdkörper stärker beeinflufst wird als die stärksten einbasischen Säuren. Dabei hat Hantzsch den Zucker stets in gleicher molekularer Konzentration verwendet wie die Säure.

Durch die freundliche Vermittlung von Herrn Kollegen Straub, der mir die Hilfsmittel seines Laboratoriums und seinen Rat zur Verfügung stellte, war ich in der Lage, mich über den Einflufs des Rohrzuckers auf die Leitfähigkeit der Weinsäure direkt überzeugen zu können und festzustellen, dafs auch diese Säure sehr stark durch Zuckerzusatz beeinflufst wird.

Ich habe verschiedene Weinsäurekonzentrationen $\frac{n}{32}$, $\frac{n}{64}$, $\frac{n}{128}$, aber stets die gleiche Zuckerkonzentration von 20%, d. h. $\frac{n}{17}$ verwendet. Die von uns in den Zinnlösungsversuchen verwendete war — um dies hier auch anzuführen — entweder 1 proz., d. h. $\frac{n}{7,5}$ oder sie enthielt 17 ccm Normalsäure, in 100 war also $\frac{100}{17} = \frac{n}{6}$ normal.

Tabelle XXV. Weinsäure in Wasser.

Konzentration	t	w	$k = \frac{c}{w}$	$\mu = k . \varphi$	μ bei 25°	μ bei 25° nach Ostwald	Die von mir gefundenen Zahlen sind in % größer als die Ostwalds
$\frac{n}{32}$	21,82	145,7	0,001839	58,848	63,526	61,4	3,3
$\frac{n}{64}$	21,9	213,5	0,001255	80,320	86,545	83,9	3,0
$\frac{n}{128}$	21,9	316,7	0,000846	108,288	116,68	113,2	2,9

1) A. Hantzsch, Über Oxonium und Ammoniumsalze, B. d. d. chem. Ges, XXXVIII, Heft 9.

Tabelle XXVI.

Weinsäure in Wasser, das 20 % Rohrzucker enthält.

Konzentration	t	w	$k = \frac{c}{w}$	$\mu = k . \varphi$	μ bei 25°
$\frac{n}{32}$	21,75	239,0	0,001121	35,872	38,790
$\frac{n}{64}$	21,74	332,9	0,000805	51,520	55,719
$\frac{n}{128}$	21,8	484,8	0,000552	70,656	76,308

Hieraus folgt: es verhält sich das Leitvermögen ohne Zucker zu dem bei Zuckerzusatz

bei $\frac{n}{32}$ Weinsäure wie 100 : 66,

» $\frac{n}{64}$ » » 100 : 69,

» $\frac{n}{128}$ » » 100 : 70.

Es wird also die Leitfähigkeit, d. h. die Jonisierung der Weinsäure, durch Zucker um 30—34 % herabgesetzt, der stärkste Einflufs ist bei den stärkeren Säurelösungen, bei der etwa ein halbes Säureäquivalent auf 1 Zuckermolekül kam.

Auch für das Kupfer habe ich früher gefunden (A. f. H. XXXV, 50), dafs der Zucker den Angriff der Säuren auf dasselbe vermindert — ich hatte eine Angabe dieser Art bei einem älteren Autor angetroffen, konnte aber später das Zitat nicht mehr finden.

Einen Versuch habe ich auch mit Eisen durchgeführt, und zwar in der Weise, dafs ich je 200 ccm 1 proz. Weinsäure mit 25 blanken kleinen Eisennägeln zusammen luftdicht in Flaschen füllte und der einen Probe 40 % Rohrzucker zusetzte, die sukzessive Lösung des Eisens wurde durch Auffangen des entstehenden Wasserstoffs kontrolliert, nachdem ich in einigen Vorversuchen das Parallelgehen von Wasserstoffbildung und Eisenlösung nachgewiesen.

Das Resultat ist in der folgenden Tabelle enthalten:

Tabelle XXVII.

Zeit in Stunden	Ohne Zucker Wasserstoff ccm	Mit Zucker Wasserstoff ccm
24	27	12
48	93	25
55	121	31
72	165	40
75	172	44
81	185	48
91	197	53
97	204	56
99	206	57
119	214	63
121	216	64
128	217	68
	nach Zugabe von 25 frischen Eisenstiften	
143	219	75
153	226	80
166	238	85
176	247	88
196	254	95
227	263	102
287	273	124

Die graphische Darstellung des Versuches zeigt, dafs mit Zucker eine absolut gleichmäfsige geringe Wasserstoffbildung stattfand, wogegen ohne Zucker eine etwas unregelmäfsigere Kurve erhalten wurde. Zunächst eine kurze Periode (24 h), in der nur etwa doppelt so viel Wasserstoff entstand als wie mit Zucker, dann folgte eine etwa bis zur 100. Stunde dauernde fast gleichmäfsige Wasserstoffbildung, etwa viermal so grofs als mit Zucker. Nach 100 Stunden nahm die Wasserstoffbildung stark ab, ich schwankte, ob ich dies auf Abnahme des Säuregehalts oder mehr auf eine sichtbare Inkrustation der Nägel in dem zuckerfreien Glase durch Eisentartrat beziehen solle. Zufügen von frischen Nägeln brachte eine vorübergehende raschere Entwicklung hervor, die aber bald wieder einer langsameren Platz machte. Die Kurve des Säuregehaltes zeigt, dafs um diese Zeit der Säuregehalt sehr zurückgegangen war.

Wir dürfen also wohl annehmen, dafs der Zuckerzusatz den Angriff aller Säuren auf Metalle herabsetzt.

10. Über den Einflufs des Öffnens der Konservenbüchsen mit animalischem Inhalt auf den Zinngehalt des Inhalts.

Versuche an animalischen Konserven wurden ausgeführt mit 2 Büchsen Heringen in Weinsäure, 1 Büchse Appetitsild und 1 Büchse Hummer.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle enthalten:

Tabelle XXVIII.
Einflufs des Offenstehens auf animalische Konserven.
Zinn in mg umgerechnet auf 1000 ccm.

	Azidität	Soeben geöffnet	Nach 8 Tagen Stehen	Nach 14 Tagen Stehen
1. Häringe in Weinsauce I . .	$^{1}/_{3}$ Normal	134	157	—
2. » » » II . .	$^{1}/_{4}$ »	100	109	119
3. Appetitsild	Neutral	144	159	—
4. Hummer	Alkalisch	137	173	—

Die Zahlen sind Mittel von je zwei gut übereinstimmenden Bestimmungen.

Es ist wohl nicht wunderbar, dafs im Versuch 3 und 4, wo es sich um schwach alkalische oder neutrale Konserven handelte, eine wesentliche Zunahme des Zinngehalts beim Stehen an der Luft ausblieb. Auffallender und entschieden einer besonderen Erklärung bedürftig sind aber die Resultate von Versuch 1 und 2. Es handelt sich hier um kräftig saure animalische Konserven. Der Säuregehalt entsprach einer $^{1}/_{3}$—$^{1}/_{4}$ Normalsäure. Die frisch geöffneten Büchsen besafsen den erwarteten mäfsigen Zinngehalt, und wir waren der festen Erwartung, dieser Zinngehalt würde beim Offenstehen erheblich zunehmen. Nichts davon wurde beobachtet, obwohl hier unlackierte Büchsen verwendet wurden.

Beim eingehenden Untersuchen der Häringbüchsen zeigte sich, dafs die Wände mindestens stellenweise mit einer Fettschicht überzogen waren, und dafs auch auf der Oberfläche der Brühe

grofse Fettmengen schwammen. Es lag deshalb die Vermutung nahe, dafs die Fettschicht an den Wänden der Büchse und auf der Oberfläche des Büchseninhalts als ein Schutzmantel gegen den Angriff von Säure und Sauerstoff zu betrachten sei.

Um dieses festzustellen, wurden Versuche in zwei Richtungen unternommen.

1. Zur Prüfung der Vermutung, dafs ein Fettüberzug der Büchsenwand eine Rolle als Schutzmittel spielt, wurden Zinnstückchen von je 100 qcm Oberfläche in offenen Gefäfsen 1. unpräpariert, 2. schwach und 3. stark mit Hirschtalg eingefettet (durch Eintauchen des Zinns in geschmolzenen Hirschtalg), in Weinsäure untergetaucht und die gelösten Zinnmengen nach 8 und 14 Tagen bestimmt. Die Zinnstücke ragten heraus.

Die Resultate sind in der Tabelle XXIX enthalten.

Dieselben zeigen, dafs bereits eine schwache Fettung ein wesentliches Hindernis für die Zinnlösung darstellt, und dafs bei starkem Einfetten der Schutz der Fettschicht äufserst stark wird. Der Unterschied der gefetteten und nichtgefetteten Bleche tritt besonders bei den stärkeren Säurekonzentrationen hervor.

2. Um zu sehen, ob das Fett auf der Oberfläche der Konserve eine schützende Decke gegen den Einflufs des Sauerstoffs der Luft bildet, wurde folgender Weg eingeschlagen:

Tabelle XXIX.

Einflufs der Einfettung auf die Löslichkeit von Zinn.
Gelöstes Zinn in mg.

Säurekonzentration	Zinnstücke uneingefettet		Zinnstücke schwach eingefettet		Zinnstücke stark eingefettet
	nach 8 Tagen	nach 14 Tagen	nach 8 Tagen	nach 14 Tagen	nach 8 Tagen
Weinsäure $^1/_{100}$ normal	28	38	19	30	—
» $^1/_{20}$ » .	85	111	50	76	14
» $^1/_{10}$ » .	117	213	81	166	—
» $^1/_5$ » .	176	356	99	251	
» $^1/_2$ » .	294	531	139	303	22
Normalweinsäure . .	346	818	202	418	—

Es wurden Zinnbleche von 100 qcm Oberfläche in Weinsäure so tief eingetaucht, dafs die Weinsäure etwas darüber stand und nun wurde in einigen der Gläser eine Decke von geschmolzenem Hammeltalg, in anderen eine dünne Olivenöldecke über die Säure geschichtet. Bei einem Kontrollversuch blieb jeder Fettzusatz weg. Die Konzentration der Säure war $^1/_5$ normal.

Nach 8 Tagen wurde der Versuch abgebrochen und das gelöste Zinn bestimmt, nachdem das Fett mit Äther extrahiert und mittels eines Scheidetrichters von der übrigen Flüssigkeit getrennt war.

Alle Versuche wurden doppelt angesetzt und ergaben folgende Resultate:

Tabelle XXX.

In den offen stehenden Lösungen wurden gefunden	In den mit Öl- und Fettschichten bedeckten Lösungen ohne Unterschied
33 mg Sn	Minimale Mengen Zinn
34 » »	(Beim Einleiten von SH_2 kaum eine Andeutung eines Farbenumschlages.)

Es ist dadurch erwiesen, dafs ein die Luft abschliefsender Fettüberzug, auch wenn er recht dünn ist, ein sehr starkes Hindernis für die Zinnauflösung bildet.

Durch beide Versuchsreihen findet die Tatsache der geringen Zinnauflösung in geöffneten, Fett enthaltenden Konservenbüchsen ihre Erklärung. Teils ist es das den Wandungen der Büchsen anliegende Fett, das einen Schutz gegen Säure und Sauerstoff ausübt, teils ist es die obenauf schwimmende Fettschicht.

Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

1. Zinn wird in verdünnten Säuren gar nicht oder nur in sehr kleinen Spuren gelöst, wenn die Flüssigkeit nicht entweder freien Sauerstoff enthält oder Luftsauerstoff aufnehmen kann. Die Zinnlösung geschieht am raschesten, wenn das Zinn aus der Flüssigkeit herausragt, erheblich langsamer, wenn es bei freiem Sauerstoffzutritt zur Oberfläche der Flüssigkeit ganz in der Flüs-

sigkeit untergetaucht ist, fast gar nicht, wenn es in sauerstofffreier Flüssigkeit luftdicht eingeschlossen ist. Es bleibt vorläufig unentschieden, worauf die unter den letzteren Bedingungen beobachteten minimalen Zinnmengen zurückzuführen sind.

2. In nicht lackierten Zinnbüchsen wird Zinn gelöst von verdünnten organischen Säuren nach Mafsgabe des in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoffs und des gasförmig zwischen Deckel und Flüssigkeitsspiegel befindlichen. Bei stehenden Büchsen erfolgt der Angriff der Zinnwand meist sehr deutlich von oben nach unten unter deutlicher Moiréebildung. Die in Gasform und gelöst zur Verfügung stehenden Sauerstoffmengen genügen, um die in Fruchtsäften beobachteten Zinnmengen bis zu 300 mg pro l zu erklären.

3. Bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff kann der gebundene Sauerstoff der Nitrate für denselben eintreten. Die Nitrate werden dabei zu Ammoniak reduziert. Es gelang nicht, in Früchten Nitrate nachzuweisen, bei dem hohen Nitratgehalt vieler Brunnenwässer ist aber eine reichliche Gelegenheit gegeben, dafs Nitrate namentlich in Gemüsekonserven gelangen. Die höchsten Zahlen, welche in Konserven bisher gefunden sind, 600 in einem Falle, sogar 1200 mg pro l, erklären sich ohne weiteres durch einen mäfsigen resp. hohen Gehalt des verwendeten Wassers oder Kochsalzes an Nitraten.

4. In geöffneten Büchsen sollte man rasche Zinnlösung erwarten, weil der Sauerstoff der Luft zutreten kann. Dieselbe bleibt aber in der Praxis in der Regel aus und zwar verhindert bei süfsen Konserven der Zucker, bei animalischen Konserven das Fett, welches die Büchsenwandungen und den Flüssigkeitsspiegel mehr oder weniger vollständig überzieht und die Luft abhält, die Zinnlösung. Die Viskosität des Büchseninhalts erschien von untergeordneter Bedeutung.

5. Die hemmende Wirkung des Zuckers beruht auf einer Störung der Jonisierung der Weinsäure. Alle untersuchten Metalle (Kupfer, Eisen) werden von gezuckerten Säuren wesentlich schwächer angegriffen als von ungezuckerten.

6. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eisen und Zinn ist die Zinnlösung sehr erheblich gestört, wogegen die Eisenlösung durch das Zinn nicht wesentlich beeinflufst wird. Es erscheint wahrscheinlich, dafs bei nachlässiger Verzinnung viel Eisen aber wenig Zinn in Lösung geht.

7. Das Lackieren der Konservenbüchsen schützt dieselben für $^1/_4$ bis $^1/_2$ Jahr in hohem Grade gegen Zinnangriff, später nimmt die Wirkung durch Zerstörung des Lacks ab.

In der Durchführung der Analysen der vorliegenden Arbeit bin ich aufser durch die im Titel genannten Doktoranden auch durch die Assistenten des Instituts, Herrn Dr. Krepelka und vor allem durch Herrn H. K. Lang, eifrigst unterstützt worden, wofür auch hier mein bester Dank ausgesprochen wird.

Den Herren Gebrüdern Wucherer, Besitzer der Wuchererschen Schokolade- und Konservenfabrik, bin ich für mannigfache liebenswürdige Förderung durch Überlassung und Verschliefsung von Büchsen und Auskunfterteilung in technischen Fragen zu herzlichem Dank verpflichtet.

Bemerkungen zu dem Artikel von cand. med. Schuppius „Die Milchleukozytenprobe nach Trommsdorff".

Von

Privatdozent Dr. R. Trommsdorff-München,
I. Assistent des Instituts.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Prof. Dr. Max Gruber.)

In dem soeben erschienenen Hefte des Arch. f. Hyg. (Band 62, H. 2, S. 137) beschäftigt sich cand. med. Schuppius mit der von mir angegebenen »neuen Methode zur Diagnose der chronischen, speziell der Streptokokkenmastitis der Kuh«[1]), die ich kurz als »Milchleukozytenprobe«[2]) oder »Milcheiterprobe« zu benennen vorschlug.

Es sei gestattet, zu dem Artikel von Schuppius, der den Anschein erwecken könnte, als sei die Probe weder begründet noch brauchbar, im Anschlusse an die von ihm als Endresultat aufgestellten Sätze einiges zu erwidern.

Schuppius schreibt:

»1. Die Graduierung der von Trommsdorff angegebenen im Handel erhältlichen Zentrifugierungsröhrchen ist nicht genau; der Inhalt ihres Kapillarteils erreicht statt 0,02 im besten Falle 0,0148 cm«.

»Der von ihm untersuchten 13 Gläschen« hätte er hinzufügen müssen. Tatsächlich ist es richtig, daſs von der Firma Hugershoff durch das Versehen eines Arbeiters bedauerlicherweise eine — nach Angabe der Firma allerdings verschwindend

1) Berl. tierärztl. Wochenschr. 1906, Nr. 15.

2) Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 12.

kleine — Anzahl Gläschen mit zu geringem Gehalt der Kapillare hinausgegangen sind. Schuppius hat offenbar gerade solche Gläschen bekommen. Jedoch sei — ohne hiermit etwa das Versehen der Firma entschuldigen zu wollen — bemerkt, dafs selbst die Fehler, die Schuppius fand, für die praktische Bedeutung der Milcheiterprobe keine wesentliche Rolle spielen.

Die Fehler, die Schuppius feststellte — ein Mindergehalt von 30—40% — sind ja sehr grofse; wenn man aber berücksichtigt, dafs sie sich auf die gesamte Eichung beziehen (0,02), so trifft auf den einzelnen Teilstrich — nur ein Fehler von 0,0003 bis 0,0004. Da nun bei gesunden Kühen der Zentrifugalbodensatz der Milch in den Gläschen oft nur Spuren beträgt, und nicht über 2 bis 4 Teilstriche (0,002—0,004) hinauszugehen pflegt, der Verdacht einer Erkrankung nach meinen Angaben erst bei Überschreitung der Marke 1 (= 0,01) vorliegt, so würde unter normalen Verhältnissen der gelbliche Bodensatz selbst im schlechtesten Gläschen, das Schuppius vorlag, statt bis zum 1., 2., 3. oder 4. Teilstrich, bis zum 5. oder äufserst bis nahe zum 6. Teilstrich gehen, immer also noch beträchtlich unter der Marke bleiben, die einen Verdacht auf bestehende Mastitis erweckt. Erfahrungsgemäfs findet sich aber, wenn nicht der Bodensatz nur minimal ist (Spuren bis zu wenigen Teilstrichen) bei bestehender Mastitis ein die Marke 1 wesentlich übersteigendes gelbes Sediment, so dafs auch in diesem Fall die zu geringe Eichung nicht von praktischer Bedeutung ist. Immerhin hat Schuppius recht, wenn er die Ungenauigkeit seiner Gläschen bzw. der dieselben liefernden Firma rügt.

Schuppius schreibt weiter:

»2. Ein durch Zentrifugieren von Milch in Trommsdorffs Kapillaren erhaltener Bodensatz besteht zum grofsen Teile — manchmal bis zu 50 Vol.-Proz. und darüber — aus Fett. Aufserdem finden sich darin Kuhkot, Haare, rote Blutkörperchen u.a.m., dagegen relativ wenig Leukozyten, die aber nicht von einer Eiterung herrühren, da sie zum gröfsten Teile solche mit eosinophilen Granulationen sind.«

Auch diesen Satz von Schuppius — erkenne ich vollständig zu Recht bestehend an — in bezug auf den minimalen Bodensatz der Milch gesunder Kühe!

Aber dieser minimale Bodensatz ist für die Milcheiterprobe völlig belanglos (die Milcheiterprobe ist eine Vergleichsmethode: sie vergleicht nur den Zentrifugalbodensatz der Milch gesunder und kranker Kühe.) Erst in der Marke 1 (1‰) übersteigender gelber Bodensatz erweckt nach meinen Angaben »Verdacht auf bestehende chronische Euterentzündung«, auf Eiterung.

Der gröfste Bodensatz nun, den Schuppius beobachtete, war 0,3‰; solche Menge ist — wie aus meinen Veröffentlichungen für jeden klar hervorgeht — völlig bedeutungslos und hat selbstverständlich nichts mit einer Eiterung zu tun.

Wollte Schuppius an meiner Methode Kritik üben, so hätte er Bodensätze untersuchen müssen, die die Marke 1 überschreiten. Auch in solchen findet sich selbstverständlich, z. T. reichlich, Fett (vielfach in Zellen eingeschlossen) und Milchschmutz; aber im wesentlichen bestehen sie (mit vereinzelten Ausnahmen, auf die ich bereits aufmerksam gemacht habe [z. B. beginnende Laktation]) aus polynukleären Leukozyten.

Da die Milchleukozytenprobe mit der Mischmilch je einer Kuh (nicht eines Stalles!) gemacht werden soll, so deutet der Befund der vermehrten Ausscheidung polynukleärer Leukozyten auf einen Entzündungsvorgang im Euter hin, dessen Sitz dann durch genauere Untersuchung der einzelnen Viertel, bzw. der Milch der einzelnen Viertel ermittelt werden kann.

(Die in solchen Fällen meist vorliegenden Streptokokkenmastitiden führen übrigens in der Regel in nicht allzulanger Zeit durch Verödung der Drüse zur Sistierung der Milchproduktion, zur Agalaktie.)

Der Schlufssatz von Schuppius lautet:

»3. Aus der Menge der Leukozyten im Bodensatz läfst sich nicht auf die Menge des der Milch beigemengten Eiters schliefsen, da der Leukozytengehalt verschiedener Eiterarten verschieden ist«.

Die letztere Tatsache ist gewifs nicht zu bestreiten und hätte wohl kaum der besonderen Versuche von Schuppius bedurft.

Wenn man aber aus beispielsweise 300 cm Milch einer kranken Zitze durch Zentrifugieren 100 cm Bodensatz (der im wesentlichen aus polynukleären Leukozyten + Bakterien besteht) erhält, so ist es sicher praktisch gerechtfertigt, von einem Eitergehalt dieser Milch von 33% zu sprechen. Wissenschaftlich exakt lassen sich da allerdings keine Angaben machen, und ich erkenne gerne an, dafs meine Angaben in der Beziehung verbotenes unkorrekt sind; dem Sinne nach aber sind sie durchaus berechtigt.

Die weiteren Einzelheiten der Schuppiusschen Untersuchungen zu besprechen, verlohnt sich nicht der Mühe. Der praktischen Anwendung der Methode tut er keine Erwähnung. Eine Bestätigung des Wertes der Milchleukozytenprobe zur raschen und leichten Auffindung euterkranker Kühe ist mir aber von vielen Seiten zugegangen und auch in der tierärztlichen Literatur bereits gewürdigt worden.

Möge in nicht allzu ferner Zeit wenigstens in Ställen, die Kindermilch liefern, eine regelmäfsige Durchführung der Milcheiterprobe dahin führen, dafs das Vorkommen von »Eiter in der Milch« zu den Unmöglichkeiten gehört!

Über das Wachstum der Bakterien in und auf Nährböden höherer Konzentration.

Von

Dr. August Jorns,
vorm. Assistenten am hygienischen Institut.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Würzburg. Direktor: Prof. Dr. K. B. Lehmann.)

Auf Anregung von Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann untersuchte Leo Wolf[1]), bis zu welchem Wassergehalte Bakterien auf verschiedenen Nährsubstraten noch zu wachsen vermöchten. Die von ihm benutzten Nährböden waren mit Gelatine, Brot, Kartoffel, Fleischpulver und Kakes hergestellt. Aus seinen Untersuchungen ging hervor, dafs Bakterien auf diesen Nährböden durchschnittlich noch bei einem Wassergehalte von 50% zu wachsen vermögen, bei 40% Wassergehalt aber meistens kein Wachstum mehr zustande kommt. Bei der näheren Durchsicht seiner Tabellen ergibt sich weiter eine individuelle Verschiedenheit der einzelnen Spezies der Art, dafs manche Bakterienarten sogar bei einem höheren Wassergehalte noch dürftig wachsen. Diese Tatsache sucht Wolf dadurch zu erklären, dafs auf seinen undurchsichtigen Nährböden das Wachstum der farbstofftragenden Arten leichter zur Beobachtung gelangt als das der farblosen. Aufserdem geht aus den Erörterungen Wolfs klar hervor, wie ich gleich von vornherein konstatieren möchte, dafs er sich nur mit dem Wachstum auf und nicht innerhalb dieser Nährböden beschäftigt hat.

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 34, S. 200.

Richard Weigert[1]) glaubte nun gerade gegen diese Versuchsanordnung Einwände erheben zu müssen. Er behauptete, dafs das Bakterienwachstum nicht bei dem angegebenen, sondern bei einem weit höheren Wassergehalte zustande gekommen wäre, denn es sei unvermeidlich, dafs sich auf der Oberfläche der Nährböden Kondenswasser niederschlage, welches die oberflächlichen Schichten stets wasserreicher mache. So wäre also in den Versuchen von L. Wolf das Wachstum nicht bei dem durch die Trocknung der ganzen Nährbodenmenge ermittelten Wassergehalte, sondern bei einem weit höheren erfolgt.

Dieser Erwägung ist ja von vornherein eine gewisse Berechtigung nicht abzusprechen, da in den Versuchen von L. Wolf nicht ausdrücklich über das Verhalten des Kondenswassers berichtet ist und sich Herr Prof. Lehmann nicht mehr genau erinnerte, welche Vorkehrungen gegen einen Einflufs des Kondenswassers getroffen waren. Eines war natürlich ohne weiteres klar, dafs Wolfs Versuche nicht auf Nährböden angestellt wurden, auf denen sichtbare Kondenswassermengen vorhanden waren. Deshalb veranlafste Herr Prof. Lehmann bald nach dem Erscheinen der Weigertschen Arbeit A. Schlitzer[2]), die Wolfschen Versuche unter besonderer Berücksichtigung gerade dieser Kondenswasserbildung von neuem aufzunehmen. Schlitzer benutzte nur Nährböden, deren hoher Trockengehalt durch Auflösung entsprechender Mengen Gelatine in Nährbouillon erreicht wurde. Diesen Nährboden liefs er schräg in Reagensgläsern erstarren. Er beobachtete nun in der Tat, dafs sich in der ersten Zeit nach Herstellung der Nährböden Kondenswasser in reichlicher Menge an den Wänden des Reagensröhrchens niederschlägt. Um dieses nach Möglichkeit zu beseitigen, wurden die Röhrchen mit der Öffnung schräg nach unten gelagert, so dafs das Kondenswasser abfliefsen konnte. Ein anderer Teil verschwindet dabei durch Verdunstung, der Innenraum des Röhrchens wird ja durch den Wattepfropf nicht luftdicht von der Atmosphäre abgeschlossen. Infolgedessen wurde die

1) Zentralblatt f. Bakt., Bd. XXXVI, S. 112.

2) Inaug.-Diss. Würzburg, 1905.

Kondenswasserbildung immer geringer bis zur Unmerklichkeit. Erst dann wurden die Röhrchen beimpft. Bei den Röhrchen, die Nährböden mit höherem Trockengehalte enthielten, war die Kondenswasserbildung überhaupt sehr gering. Ich glaube nun, dafs bei einer solchen Versuchsanordnung sogar eher eine Wasserverarmung als ·Anreicherung der oberflächlichsten Nährbodenschichten eintritt. Zeigt uns doch die tägliche Erfahrung im Laboratorium, dafs die in Reagensgläsern aufbewahrten Nährböden von der Oberfläche aus allmählich eintrocknen. Die Oberfläche sinkt schalenförmig ein, indem die Randpartien an der Glaswand haften bleiben. Bei solchen stark eingetrockneten Nährböden kann man schön durch das Gefühl konstatieren, dafs die oberflächlichsten Partien fester, also auch wasserärmer als die tieferen Schichten des Nährbodens sind. Bei nur kürzere Zeit aufbewahrten Röhrchen wird das ebenfalls, wenn auch in geringerem Grade, der Fall sein.

Die Untersuchungen Schlitzers wurden also unter peinlichster Vermeidung der durch Kondenswasserbildung eventuell verursachten Fehlerquellen angestellt. Seine Resultate, die er aus zwei Versuchsserien erhielt und in seiner Dissertation niederlegte, will ich hier nochmals in tabellarischer Form wiedergeben. Der mittlere Wassergehalt wurde für jedes einzelne Kulturröhrchen aus folgenden Komponenten berechnet:

a = Gewicht des eben beimpften Kulturröhrchens;

b = Gewicht des Kulturröhrchens nach Abschlufs der Beobachtung des erfolgten Wachstums;

c = Gewicht des Röhrchens, nachdem durch mehrtägigen Aufenthalt im Wassertrockenschrank Gewichtskonstanz des Nährbodens herbeigeführt war;

d = Gewicht des Reagenzglases.

Die Ausrechnung des Wassergehaltes erfolgte nach der Formel:

$$(a - c) : (a - d) = x : 100$$
$$(b - c) : (b - d) = y : 100$$

Mittlerer Wasssergehalt $= \frac{x + y}{2}$.

Tabelle I. Konzentration mit einem gewünschten Wassergehalt von 70 %.

Bakterienart	Serie I			Serie II		
	Art des Wachstums	Nach ? Tagen	Mittlerer Wassergehalt in %	Art des Wachstums	Nach ? Tagen	Mittlerer Wassergehalt in %
Bact. prodigiosum .	üppig	2	65,4	üppig	2	70,0
» pyocyaneum .	»	2	65,3	»	2	70,0
» vulgare . . .	deutlich	5	64,5	deutlich	3	70,0
Vibrio cholerae . .	»	10	64,6	»	5	69,8
Bac. anthracis . .	»	12	63,7	»	5	69,5
M. pyog. aureus . .	»	15	63,4	»	8	69,3
Bact. latericium . .	»	15	63,2	»	8	68,7
» typhi . . .	»	15	63,3	»	15	67,4

Tabelle II. Konzentration mit einem gewünschten Wassergehalt von 60 %.

Bact. prodigiosum .	üppig	2	58,8	üppig	2	59,8
» pyocyaneum .	»	3	58,5	»	3	59,3
» vulgare . . .	deutlich	8	57,4	deutlich	6	58,9
Vibrio cholerae . .				»	12	57,9
Bac. anthracis . .	»	12	56,8	»	8	58,3
M. pyog. aureus . .	»	12	57,3	»	10	58,6
Bact. latericium . .	»	15	55,6	»	12	57,4
» typhi . . .	»	15	55,2	»	15	58,2

Tabelle III. Konzentration mit einem gewünschten Wassergehalt von 50 %.

Bact. prodigiosum .	üppig	5	48,7	üppig	5	49,7
» pyocyaneum .	»	8	48,5	»	6	49,8
» vulgare . . .	deutlich	8	47,3	»	6	48,5
Vibrio cholerae . .	»	12	47,7	»	10	48,3
Bac. anthracis . .	»	15	46,5	»	12	47,9
M. pyog. aureus . .	»	15	47,9	»	15	48,2
Bact. latericium . .	»	20	44,6	»	15	47,5
» typhi . . .	»	20	45,3	»	20	45,6

Tabelle IV. Konzentration mit einem gewünschten Wassergehalt von 40 %.

Bact. prodigiosum .	zieml. üppig	8	37,5	zieml. üppig	8	38,4
» pyocyaneum .	zart	14	36,3	zart	14	36,7
» vulgare . . .	»	21	36,4	»	14—21	36,5
Vibrio cholerae . .	»	21	35,7	»	14—21	36,2
Bac. anthracis . .	»	21	35,9	»	14—21	36,4
M. pyog. aureus . .	»	21	36,3	»	14—21	35,2
Bact. latericium . .	»	21	35,5	»	14—21	35,7
» typhi . . .	»	21	35,3	»	14—21	35,2

Die Resultate der Schlitzerschen Untersuchungen bestätigen also vollkommen diejenigen, die Wolf erhalten hatte. Ja, Schlitzer sah sogar noch Oberflächenwachstum all seiner untersuchten Arten bei einem durchschnittlichen Wassergehalt von nur 36%. Allerdings war dasselbe nur sehr zart und wurde erst nach 3 Wochen sichtbar. Wolf hatte ja schon festgestellt, dafs die Stärke des Wachstums mit der Konzentration des Nährbodens abnimmt.

Um den Fehler, der durch eine eventuelle Wasseranreicherung der obersten Schichten durch Kondenswasserbildung entstehen könnte, gänzlich zu vermeiden, wandte R. Weigert eine andere Versuchsanordnung an; er füllte die von ihm verwandten Gelatinenährböden in flache Fläschchen nach Soyka und suchte eine nachträgliche Eintrocknung des Nährbodens durch Abdichtung der mit Watte verschlossenen Fläschchen durch Paraffin und eine Gummikappe zu vermeiden. Er betrachtete den Versuch nur dann als positiv, sofern Bakterienwachstum in den tieferen Schichten zu beobachten war; Wachstum an der Oberfläche oder in den oberflächlichen Schichten sah er als negativ an.

Auf diese Weise ergab sich ihm, dafs auf Nährböden mit einem Wassergehalte von 67% ziemlich gleichmäfsig bei allen von ihm untersuchten Arten eine allmählich zunehmende Wachstumshemmung eintritt. Später sagt er noch bestimmter: »Alle 7 geprüften Bakterienarten können noch gedeihen in Nährsubstraten mit einem Trockengehalte von ca. 32% i. e. einem Wassergehalte von 68%, sie gedeihen nicht mehr in einem Nährsubstrate von ca. 35% Trockensubstanz, i. e. einem Wassergehalte von ca. 65%.«

Es war nun zu ergründen, woraus sich diese Verschiedenheiten der Resultate Weigerts einerseits und Wolfs und Schlitzers anderseits erklären lassen. Mehrere Gründe können zur Erklärung herangezogen werden. Vergleicht man die Tabellen Schlitzers und Weigerts, so mufs auffallen, dafs die Beobachtungsdauer sehr erheblich differiert. Weigert beobachtete das Wachstum in seinen

Nährböden meistens nur bis zum 6.—8. Tage, Schlitzer aber konnte durchschnittlich erst Wachstum nach einer Zeit konstatieren, die mehr als 6—8 Tage betrug. Die Zeit, bis zu welcher deutliches Wachstum konstatiert wurde, war um so länger, je höher die Konzentration des Nährbodens war. Dafs aber die Stärke des Wachstums und damit auch die Intensität und das Sichtbarwerden desselben mit der Höhe der Konzentration abnimmt, das war schon von Wolf deutlich ausgesprochen worden.

Eine andere Tatsache macht es wahrscheinlich, dafs wenigstens für einen Teil der Bakterien das Wachstum im Innern von hochkonzentrierten Gelatinenährböden eine weitere Verlangsamung erfährt, resp. vollkommen unmöglich wird. In diese Nährböden diffundiert nämlich der Sauerstoff nur sehr langsam hinein. Ich konnte dies auf folgende Weise veranschaulichen. Ich färbte Nährböden verschiedener Konzentration, nachdem ich sie verflüssigt hatte, unter Schütteln mit einem Tropfen verdünnten Methylenblaus, dann brachte ich sie auf ca. ½ Stunde in den Autoklaven bei geringem Überdruck. Dadurch wird aller Sauerstoff aus dem Nährboden ausgetrieben und das Methylenblau reduziert. Die Leukoverbindung regeneriert sich beim Zusammenbringen mit Sauerstoff sofort wieder zu Methylenblau. Die entfärbten Röhrchen wurden rasch im kalten Wasser annähernd farblos zur Erstarrung gebracht. Die nachträglich etwa eintretende Bläuung zeigte mir die Art und die Intensität der Sauerstoffdiffusion an. Bei der gewählten Versuchsanordnung schreitet die Bläuung von der Oberfläche des Nährbodens in die Tiefe fort, und das Fortschreiten der Bläuung giebt ein Mafs für die Geschwindigkeit der Sauerstoffdiffusion in die verwendeten Nährböden. Folgende Tabelle enthält meine mit dieser Methode gewonnenen Resultate.

Tabelle V. Sauerstoffdiffusion in Nährböden verschiedener Konzentration.

Art des Nährbodens	Gesamthöhe des Nährbodens im Reagensglas	Bläuung reicht in eine Tiefe von ? cm nach 24 Stunden	nach 4 Tagen	nach einigen Wochen
1 proz. Nähragar . .	5 cm	1 cm	3½ cm	5 cm
10 proz. Nährgelatine.	5½ »	1 »	2¾ »	5½ »
50 proz. Nährgelatine.	4 »	einige mm	1 »	2 »

Aus diesem Versuch geht jedenfalls hervor, dafs die Diffusion des Sauerstoffs der Konzentration des Nährbodens proportional verlangsamt wird. Da die Gelatine vor der Beimpfung in den Gläschen oder Fläschchen selbst durch Hitze sterilisiert wird, so sind die Nährböden von vornherein sauerstoffarm. Werden sie dann nach der Beimpfung durch Paraffin luftdicht verschlossen, so steht in dem geringen Luftraum im Reagensrohr nur eine sehr geringe Menge Sauerstoff zur Diffusion in den Nährböden zur Verfügung. Ein Wachstum ist daher nur für anaerobe oder fakultativ anaerobe Bakterienarten im Innern des Nährbodens möglich.

Schliefslich möge noch erwähnt sein, dafs schon eine 30proz. Gelatine aufserordentlich zähe ist. Solche und noch mehr noch höher konzentrierte Nährböden werden der heranwachsenden Bakterienkolonie, sofern diese nicht imstande ist, die Gelatine zu verflüssigen, einen grofsen, elastischen Widerstand entgegensetzen. Dieser wird, je nach der Wachstumsenergie, die der einzelnen Spezies innewohnt, einen mehr oder weniger starken Einflufs auf die Gröfse der Kolonie, mithin auf ihr Sichtbarwerden ausüben.

Schlitzer hat schon einige Versuche angestellt, um die Weigertschen Resultate mit einer ähnlichen Versuchsanordnung nachzuprüfen. Jedoch erscheinen mir diese Schlitzerschen Versuche nicht vollkommen einwandfrei. In einer Versuchsreihe, aus der er Resultate über das Wachstum der Bakterien im Innern von hochkonzentrierten Nährböden erhalten wollte, beimpfte er den erstarrten Nährboden durch einen Stich mit der Platinnadel. Bei der Festigkeit des Nährbodens entstand aber durch den Stich ein der Platinnadel entsprechendes Loch von nicht unerheblichem Durchmesser, da nur mit starken Nadeln der Einstich möglich war. Dadurch waren aber im weiten Stichkanal etwa die gleichen Verhältnisse wie an der Oberfläche. Die Versuche, in denen Schlitzer Schüttelkulturen verwendet, sind wenig zahlreich. Bei ihnen könnte auch die nachträgliche Eintrocknung des nicht mit Paraffin verschlossenen Kulturröhrchens einen Fehler bei der Berechnung des Trockengehaltes veranlafst haben.

Da Schlitzer durch äufsere Verhältnisse gezwungen war seine Versuche abzubrechen, veranlafste mich Herr Prof. Dr. K. B. Lehmann zur Fortsetzung derselben, da ich schon vorher Schlitzer unterstützt hatte.

Schlitzer war bei der Herstellung einer vollständig klaren Gelatine auf Schwierigkeiten gestofsen. Hochprozentige Gelatinelösungen lassen sich auf keine Weise klar filtrieren. Ein vollkommen klarer Nährboden ist aber unbedingt erforderlich, um die eventuell sehr kleinen Kolonien beobachten zu können. Um einen vollständig klaren Nährboden zu erzielen, verfuhr ich folgendermafsen: Ich stellte mir zunächst eine 20 proz. Gelatinelösung her, fügte Pepton, Fleischextrakt und Kochsalz in Mengen zu, dafs ich in der durch Einkochen gewonnenen höheren Konzentration stets einen Gehalt von 1% Fleischextrakt, 1% Pepton und ½% Kochsalz erhielt, neutralisierte in üblicher Weise, filtrierte und brachte dann durch Einkochen auf dem Wasserbade den Nährboden etwa auf die gewünschte Konzentration. Dabei war ein stetes Umrühren mit dem Glasstabe erforderlich, um Hautbildung an der Oberfläche zu vermeiden. Nährböden mit einem Trockengehalte von 60—70% herzustellen, ist auf diese Weise unmöglich. Durch das stete Umrühren durchsetzt sich der Nährboden mit Luftblasen, die bei so hohen Konzentrationen auch im Dampftopf nicht wieder zu entfernen sind. Aufserdem sind diese Nährböden aufserordentlich fest. Es gelang nur mit einem Meifsel, die 70 proz. Gelatine auf der Porzellanschale, in der sie gekocht war, herauszubekommen. Es sei daran erinnert, dafs die Gelatine des Handels 15% Wasser enthält. Nach Einkochung wurden die Nährböden in Reagensgläser gefüllt und sterilisiert.

Der genauere Wassergehalt der annähernd genau eingekochten Gelatine wurde durch Trocknung einiger Röhrchen jeder Serie im Wassertrockenschrank festgestellt. Die Resultate stimmten gut überein, so dafs nicht alle Röhren der Serie auf ihren Trockengehalt untersucht zu werden brauchten.

Die einzelnen Röhrchen wurden in flüfsigem Zustande beimpft, indem das Bakterienmaterial mit der Platinöse durch kreisende Bewegungen möglichst gleichmäfsig verteilt wurde. Das Röhrchen

wird mit Watte und alsdann noch mit Paraffin luftdicht verschlossen. Die Tatsache, dafs das Gewicht der Röhrchen selbst nach Monaten noch konstant blieb, beweist die Vollkommenheit des Verschlusses.

Bei meinen in folgender Tabelle wiedergegebenen Versuchen standen die beimpften Röhren bei Zimmertemperatur. Bei 64,5% und 55,6% Wassergehalt ist das Wachstum erst nach 8 Tagen, bei 49,2% Wassergehalt erst nach 2 Wochen eben sichtbar und verstärkt sich im Laufe der nächsten Monate zu dem Bild, das die Tabelle fixiert.

Tabelle VI. Wachstum innerhalb hochkonzentrierter Nährböden.

Bakterienart	Wachstum bei einem durchschnittlichen Wassergehalt von		
	64,5%	55,6%	49,2%
Micr. pyog. aureus	Oberfl. Verflüssigung bis zu 1 cm Tiefe. In der Tiefe gröfsere, kleinere u. kleinste Kolonien.	Oberfl. Verflüssigungstrichter bis zu 1/2 cm, diffuses Wachstum bis zu 1 cm Tiefe, darunter kleinste Kolonien.	
Bact. typhi	Kolonien nur in den oberfl. Schichten.	Makroskopisch kein Wachstum erkennbar.	
Bact. coli	Diffuses Wachstum bis zu 1/2 cm Tiefe. In tiefer. Schichten gröfsere, kleinere u. kleinste Kolonien.	Bis zu 1 cm Tiefe zahlr. Kolonien, vereinzelte in der Tiefe, daneben diffuse Trübung u. kleinste Kolonien.	
Bact. pyocyaneum	Oberfl. Verflüssigung. In der Tiefe bräunlich. Kolonien und Gasblasen.	Geringe oberfl. Verflüssigung. In der Tiefe grofse Gasblasen neben gröfs. Kolonien.	Kleinere Kolonien in allen Schichten des Nährbodens. In der Mitte Gasblasen.
Bac. anthracis	Oberfl. Verflüssigungstrichter. In d. oberfl. Schicht. klein. zarte Kolonien.	Makroskopisch kein Wachstum.	
Bac. tetani.	Fast vollkommene Verflüssigung. Kulturrasen am Boden derselben.	Starkes diffuses Wachstum u. zahlr. mittelgr. Kolonien in der Mitte.	2 Versuche: a) Zart. Wachstum mit Gasbildung in d. Mitte. b) Verflüss. u. zahlr. kleine Kolonien i. d. Mitte d. Nährbodens.

Aus diesen Versuchen geht völlig einwandfrei hervor, dafs Bakterienwachstum im Innern von Nährböden noch bis zu einem Wassergehalt von 49,2%, i. e. einem Trockengehalte von 50,8% möglich ist. Die Versuche erscheinen mir absolut einwandfrei und beweisend.

Weiter wird durch sie erhärtet, dafs mit der Höhe der Nährbodenkonzentration die Stärke und Intensität des Wachstums vermindert wird; die Entwicklungsdauer der Kolonien ist verlangsamt, eine Tatsache, die schon Wolf deutlich ausgesprochen hatte, die aber Weigert gar nicht in Erwägung zog.

Der Sauerstoffmangel, der, wie ich vorher auseinandersetzte, im Innern der hoch konzentrierten Nährböden herrscht, könnte das Wachstum aerober Bakterien daselbst weiter herabmindern oder unmöglich machen. In der Tat gediehen Bact. typhi und Bac. anthracis, die bei 55,6% Wassergehalt nicht mehr makroskopisch sichtbar wuchsen, in Kontrollversuchen schlecht oder kümmerlich bei anaerobem Kulturverfahren. Aufserdem war in meinen Versuchen die relativ stärkste Entwicklung in oberflächlicheren Schichten, die noch am sauerstoffreichsten sind. Veränderungen des Wassergehaltes dieser Schichten können mit Ausnahme der Oberfläche selbst hier nicht in Betracht kommen. Ich konnte niemals merkliche Spuren von Kondenswasser an den Wänden der Gläschen, die in einem, keinen grofsen Temperaturschwankungen ausgesetzten Raum aufgestellt waren, bemerken. Bacillus tetani, ein obligater Anaerob, wuchs in allen Konzentrationen am üppigsten, ein weiterer Beweis für meine Behauptung.

Die negativen Versuche Weigerts erklären sich, wie oben vermutet, offenbar durch seine zu kurze Beobachtung. Die Kürze seiner Beobachtungsdauer mag eine gewisse Berechtigung haben in Anbetracht des Zweckes, für den er seine Versuche anstellte. Wollte er doch durch sie beweisen, dafs die natürliche Widerstandsfähigkeit des menschlichen Organismus gegenüber den Bakterien vielleicht auf der Unfähigkeit letzterer. bei einem Wassergehalt zu wachsen, wie ihn der menschliche

Gesamtorganismus hat, beruhe. Ich will mich auf die Diskussion dieser Frage nicht einlassen. Es leuchtet doch leicht ein, dafs sich der Wassergehalt eines homogenen Nährbodens nicht mit dem Gesamtwassergehalte des menschlichen Organismus vergleichen läfst. Im letzteren gibt es ja wasserärmere, aber auch recht wasserreiche Regionen (Blut, Lymphe usw.).

Für uns handelte es sich nur um die Feststellung der rein biologischen Frage: Bis zu welchem Wassergehalte Bakterienwachstum überhaupt noch möglich ist. Meine Untersuchungen zeigen, dafs die Behauptung, die schon Wolf aufstellte: »Bakterien wachsen **auf** unseren gebräuchlichen Nährböden noch bis zu einem Wassergehalte bis zu 50%«, auch für das Wachstum dieser Bakterien **im Innern** dieser Nährböden, speziell der Gelatinenährböden, vollkommen zu Recht besteht. Über die Möglichkeit, bis zu 40% Wassergehalt noch spurweises Wachstum zu beobachten, was auf Nährboden Wolf dann und wann, Schlitzer immer gelungen sein soll, möchte ich mich nicht endgültig aussprechen. Die Fehlerquellen liegen auf der Hand. Klare Nährböden mit so niederem Wassergehalt konnte ich nicht mehr herstellen und deshalb über das Wachstum im Innern derselben nichts erfahren.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann, für das rege Interesse, welches er meinen Untersuchungen entgegenbrachte, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Studien über die Zähigkeit des Fleisches und ihre Ursachen.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

Unter Mitwirkung[1]) der Herren: Dr. Fritz Schindler aus Kascher i. Schl., Dr. Paul Gunkel aus Kassel, Dr. Joseph Tillmann aus Menden (Westf.), Dr. Joseph Wilms aus Mausbach b. Aachen, Dr. David Rothschild aus Frankfurt a. M., Dr. Max Selo aus Prechlau (W.-Pr.), Dr. Adolf Schauwienold, H. Jaeth, Dr. Leo Isaak aus Pfungstadt und Dr. Ludwig Rumpf aus Eichstätt.

(Aus dem Hygienischen Institut in Würzburg.)

I. Einleitung.

Es ist jedermann bekannt, dafs sich sowohl die gleichen Muskeln verschiedener Tiere als verschiedene Muskeln des gleichen Tieres in bezug auf ihre Zähigkeit sehr bedeutend unterscheiden.

Die Zartheit des Filets gegenüber der Zähigkeit der Wadenmuskeln und Hautmuskeln, die Zähigkeit des Fleisches alter und abgearbeiteter Tiere gegenüber dem von jungen und gut gefütterten ist in breiten Schichten des Volkes als Tatsache anerkannt und bei der Preisbestimmung von Bedeutung.

---

1) Vergl.: K. B. Lehmann, Sitzungsberichte der physik.-med. Gesellschaft zu Würzburg, 11. März 1897.

Fritz Schindler, Über die Ursache und Bedeutung der verschiedenen Zartheit unseres Schlachtviehs. Dissertation Würzburg 1895.

Paul Gunkel, Vergleichende Bestimmungen über die Zähigkeit verschiedener Fleischsorten. Dissertation Würzburg 1896.

Untersuchungen, aus denen ziffermäfsig etwas über den verschiedenen Grad der Zähigkeit entnommen werden könnte oder die über die Ursachen der verschiedenen Zähigkeit etwas aussagten, sind mir nicht bekannt geworden, ich teile daher die von mir mit meinen Schülern in den letzten 10 Jahren unternommenen Arbeiten mit, ohne mich auf die Arbeiten anderer zu beziehen.

Ich schicke voraus, dafs das meiste untersuchte Fleisch von leicht tuberkulösen Tieren stammte und von der Würzburger Freibank durch freundliche Vermittelung des Herrn Polizeitierarztes Düll geliefert wurde. Es kam ausschliefslich Fleisch kräftiger, wohlgenährter Tiere zur Verwendung. Nach einigen Versuchen einigten wir uns, immer nur zwei Fleischsorten des gleichen Tieres miteinander zu vergleichen und zwar wählten wir Lende (Filet), d. h. die oberen Teile des Psoas und einen Muskel, der im folgenden als Hautmuskel bezeichnet ist, und der genauer als Flankenhautmuskel zu bezeichnen wäre.

Ich habe lange mit der Zusammenfassung der vorliegenden Arbeiten gezögert, weil ich durchaus nicht verkenne, wie schwierig die gestellten Probleme sind. Nachdem ich aber zur Einsicht gekommen bin, vorläufig wohl nicht mehr viel weiter kommen zu können, so habe ich mich entschlossen, die vorhandenen

---

Joseph Tillmann, Die Bedeutung des Bindegewebes für die Zähigkeit des Schlachtfleisches. Dissertation Würzburg 1896.

Joseph Wilms, Beiträge zur Kenntnis der Zähigkeit unserer Nahrungsmittel. Dissertation Würzburg 1897.

David Rothschild, Beiträge zur Kenntnis der Zähigkeit der inneren Organe unserer wichtigsten Schlachttiere. Dissertation Würzburg 1897.

Max Selo, Quantitative Bestimmungen des kollagenen Gewebes im Fleische. Dissertation Würzburg 1899.

Adolf Schauwienold, Neue Beiträge zur Kenntnis der Muskelzähigkeit, insbesondere über die Veränderung derselben beim Abhängen des Fleisches. Dissertation Würzburg 1899.

Leo Isaak, Über die Zähigkeit des Fleisches in ihrer Beziehung zur Dicke der Muskelfasern. Dissertation Würzburg 1901.

H. Jaeth, Über die Veränderung der Muskelzähigkeit beim Gefrieren. Noch nicht gedruckt.

Ludwig Rumpf, Physikalische Veränderungen des Fleisches beim Kochen. Dissertation Würzburg 1903.

Resultate einmal zu publizieren und auf die erkannten Lücken und Mängel offen hinzuweisen. Vielleicht dafs weitere Forscher mit neuen Methoden weiterkommen.

II. Die Methodik zur Gewinnung von Vergleichszahlen über die Zähigkeit verschiedener Muskeln.

Unter der Zähigkeit eines Fleisches versteht man im praktischen Leben den Widerstand, den dasselbe dem Zerschneiden und namentlich dem Zerbeifsen entgegenstellt. Es ist also die Druckfestigkeit, richtiger die Abscherfestigkeit das Mafs für die Zähigkeit.

Da ein geeigneter Apparat zur Prüfung der Druckfestigkeit nicht zu Gebote stand, so stellten wir zuerst einige Versuche über die Zugfestigkeit an, um uns einen Begriff zu verschaffen, ob Lende und Hautmuskel sich überhaupt so verschieden verhielten, dafs eine Prüfung der Frage der Zähigkeit mit einer einfachen Methodik lohne.

Es wurden aus Lende und Hautmuskel 15 cm lange Streifen der Faser parallel geschnitten von einem Durchmesser von 1 $^1/_2$ cm. Diese Streifen wurden am einen Ende mittels Kork fest in ein kräftiges Eisenstativ eingespannt während an das andere stark mit Bindfaden umwickelte Ende mittels eines Hakens steigende Gewichte angehängt wurden. Die Versuche, die nur als ziemlich rohe Vorversuche bezeichnet werden dürfen, gaben immerhin ein aufserordentlich interessantes Resultat. Es zeigte sich, dafs der Hautmuskel erst bei einer Belastung von 11 kg, die Lende dagegen schon bei 4 kg zerrifs. Die Versuche wurden ein paar Mal wiederholt und gaben immer analoge Resultate, d. h. die Zugfestigkeit von Filet und Hautmuskel verhält sich etwa wie 1 : 2,75. Vor der Zerreifsung wird der Muskel stark gedehnt. Die Abreifsung erfolgte fast immer in der Nähe des einen der beiden Enden, beeinflufst von der etwas einschneidenden Umwickelung.

Nachdem wir in einer vorläufigen Versuchsreihe einige Fleischsorten auf ihre Nachgiebigkeit gegen Druckbelastung mit

unbefriedigendem Resultat geprüft hatten, sagte ich mir, dafs es wohl am besten sei, einen Apparat zu konstruieren, der tunlichst den menschlichen Beifsakt nachahmt. Ich weifs sehr wohl, dafs das Zerkauen des Fleisches nur zum kleineren Teil durch die Schneidezähne, zum gröfseren Teil durch die Backzähne bewirkt wird; dennoch lehnt sich die Konstruktion an die Funktion der Schneidezähne an, da nur auf diese Weise Vergleichszahlen für verschiedene Fleischsorten zu gewinnen waren. Der nebenstehend abgebildete Apparat Dexometer (Δῆξις = Biß) ist von der Firma Siedentopf, dahier, ausgeführt und hat sich im grofsen und ganzen als recht zweckentsprechend erwiesen.

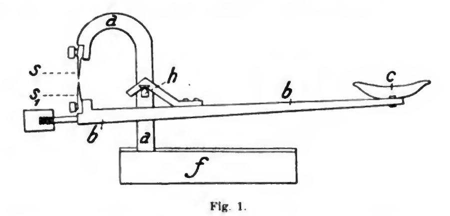


Fig. 1.

Auf einem eisernen Fufse *f* erhebt sich ein gebogener Aufsatz *a*, an dessen nach unten gerichtetem freien Ende eine abnehmbare, durch Schrauben befestigte Schneide *s* sich befindet. Diese Vorrichtung entspricht dem Oberkiefer und bleibt bei den Versuchen in Ruhe. Der Unterkiefer wird nachgeahmt durch eine auf der Schneide *h* aufgehängte Metallstange *b*, die an ihrem einen Arme eine Gewichtsschale, an ihrem anderen Ende ein verschraubbares Gewicht zum Zwecke der Equilibrierung trägt. Ziemlich genau unter der oberen Schneide ist an dem beweglichen Balken eine zweite angeschraubt. Die Schneiden sind aus Stahl und messerartig scharf. Die untere Schneide ragte eine Spur über die obere vor, wenn der Hebel im Gleichgewicht ist. Es wird dadurch ein scherenartiges Abschneiden des zwischen die Schneiden gebrachten Fleisches bewirkt, wenn in die Schale *c* Gewichte gelegt werden. Das obere Ende der unteren Schneide, der Aufhängepunkt des beweglichen Arms und die Mitte der

Wagschale liegen in einer Ebene. Der Hebelarm, an dem die Gewichte angreifen, ist 35 cm, der kleinere mit den Schneiden 7 cm lang, es wirken somit die Gewichte an einem 5 mal längeren Hebelarm, und es sind deshalb die gefundenen Gewichtszahlen im folgenden mit 5 multipliziert.

Unter die Gewichtsschale wurde ein Aufbau aus Holzklötzen gelegt, der in den ersten Versuchsserien die Bewegung der unteren Schneide etwa in $^1/_4$ mm Entfernung von der oberen Schneide hemmte, um eine Beschädigung der Schneiden zu vermeiden. Später hemmten wir den Apparat erst, wenn die obere Schneide ca. $^1/_2$ mm an der unteren vorbeigeglitten war, was die Zahlen kaum beeinflufste. Alle Versuche sind mit den gleichen Schneiden angestellt Dieselben sind mäfsig scharf, verdünnen sich gleichmäfsig gegen die schneidende Kante und sind in einer Entfernung von 14 mm von derselben 2 mm dick.

Der Apparat wurde eingehend nach verschiedenen Gesichtspunkten auf seine Brauchbarkeit und die zur Gewinnung brauchbarer Vergleichszahlen nötigen Vorsichtsmafsregeln untersucht, woran sich insbesondere Dr. Rothschild beteiligte.

Vor allem drängte sich uns die Überzeugung auf, dafs der Hebelarm, welcher die Schale trägt schon unbelastet mit einer gewissen Kraft das Objekt zu durchbeifsen strebt, das man zwischen die geöffneten Schneiden legt. Um dies einzusehen, brauchte man blofs den Finger zwischen die Schneiden zu legen. Die Gröfse dieser Kraft wächst mit der Entfernung der Schneiden, indem mit zunehmender Öffnung der Schneiden der Schwerpunkt des Hebels immer mehr aus seiner Lage senkrecht unter (2,8 cm) dem Drehpunkt sich entfernt und der Hebelarm, an dem das Gewicht des Schalenbalkens wirkt, gröfser wird. Wir haben die potentielle Energie, welche der Schalenbalken (1730g schwer) entwickelt, wenn die Schneiden in einer Entfernung von 1 cm stehen, einmal konstruktiv und rechnerisch, zweitens aber experimentell bestimmt. Da beide Bestimmungen recht gut übereinstimmen, so teilen wir nur die Ergebnisse der zweiten Methode mit. Legt man zwischen die beiden Schneiden ein Holzklötzchen von 1 cm Dicke, so genügt es unter der Schneide *s*, ein Gewicht

von 100 g anzuhängen, um jede Druckwirkung der Schneiden gegen das Holz aufzuheben, so dafs das Holz leicht herausgezogen werden konnte. Auch ein Finger von 1 cm Dicke fühlte keinen Druck mehr, wenn 100 g angehängt wurden. 100 g am kurzen Hebelarm wirken aber gerade wie 20 g am 5 mal längeren langen Hebelarm. Da aber der Hebel diese Wirkung nur in der extremen Öffnung der Schneiden von 1 cm ausübt und nach dem Durchbeifsen im Gleichgewicht hängt, also keinen Druck hervorbringt, so läfst sich die Wirkung des Hebeldruckes durch $\frac{20 + 0}{2}$ d. h. durch 10 g zum Ausdruck bringen, die man zu den auf die Schale gelegten Gewichten addiert. Für Objekte von nur 0,5 cm Dicke sind 5 g zu addieren.

Unter Berücksichtigung dieser selbstverständlichen Korrekturen gibt der Apparat die Zahlen, wie man sie theoretisch erwarten mufs, während die unkorrigierten unbefriedigend sind. Wir haben diese Prüfung angenommen mit sorgsam regelmäfsig zurechtgeschnittenen Kartoffel-Parallelopipeden. Folgende Zahlen wurden je in 10 Versuchen direkt gefunden:

	Höhe 1 cm Breite 1 cm	Höhe 1 cm Breite 0,5 cm	Höhe 0,5 cm Breite 1 cm	Höhe 0,5 cm Breite 0,5 cm
1.	48	18	30	8
2.	55	15	25	12
3.	49	23	23	10
4.	45	22	26	12
5.	50	24	24	7
6.	50	25	22	9
7.	53	17	25	12
8.	55	22	23	15
9.	48	20	26	12
10.	45	23	25	8
also im Durchschnitt:	49,0	20,9	24,9	10,5

Diese Zahlen

49 21 25 10,5

verhalten sich nur ungefähr wie die durchbissenen Flächen, nach denen zu erwarten gewesen wäre:

50 25 25 12,5.

Addiert man aber zu den an den beiden 1 cm dicken Beifsobjekten gewonnenen 10 zu den beiden ½ cm hohen niedrigen 5 g, so erhält man:

59	31	30	15,5

statt

60	30	30	15

eine gröfsere Übereinstimmung wäre nicht möglich und es ist damit nachgewiesen, dafs der Apparat sehr befriedigend arbeitet.

Die hier abgeleitete Korrektur haben wir nur bei den Zahlen für weiche Objekte durchgeführt. Betrug die notwendige Gewichtsauflage wie bei Fleisch mehrere Hundert Gramm, so war eine solch kleine Korrektur ohne Bedeutung.

Die im folgenden mitzuteilenden Versuche wurden untereinander möglichst gleichmäfsig angestellt. Die zu durchbeifsenden Fleischzylinder hatten alle möglichst genau in rohem Zustande einen Umfang von 3,75, d. h. einen Durchmesser von 1,2 cm und waren möglichst genau der Faser parallel geschnitten. Um ein Ausweichen der Bündel nach der Seite möglichst zu vermeiden, wurden dieselben in Abständen von 1 zu 1 cm mit weichem Bindfaden fest umwickelt und zwischen den Bindestellen durchschnitten.

Die einfache Konstruktion des Apparates sowie die unregelmäfsige Zusammensetzung der Muskulatur, die Einlagerung von gröberen Bindegewebszügen, Gefäfsen, Nerven zwang natürlich dazu, jeden Einzelversuch stets ca. 10—20 mal zu wiederholen, was bei der einfachen Versuchsanordnung keineswegs als ein Unglück anzusehen ist. Abgesehen von einigen Belegbeispielen werde ich in dieser zusammenfassenden Darstellung nur die Mittelzahlen geben, zu deren Gewinnung stets alle überhaupt erhaltenen Werte Verwendung fanden, sie mochten noch so abweichend nach oben oder unten ausgefallen sein. — Oberflächliche Faszien wurden natürlich stets wegpräpariert, die Durchbeifsung wurde als vollendet angesehen, wenn auch noch ¼—½ mm Bindegewebe zwischen den Schneiden blieb. Die Durchschneidung wurde stets langsam durchgeführt, um nicht durch zu hastiges Gewichtauflegen zu grofse Lasten zu finden,

vielmehr wurde jedem Gewicht etwa $^1/_2$ Minute Zeit gegeben zu wirken und für weiche Körper Gewichte von 5 zu 5, für feste von 50 zu 50 aufgelegt. Die Zeit, die man die Einzelbelastungen wirken läfst, ehe man sie vermehrt, ist natürlich von einiger Bedeutung für das Resultat — es mag in etwas abweichendem Arbeiten in dieser Richtung zum Teil der Unterschied der Resultate der verschiedenen Mitarbeiter bedingt sein.

Dr. Ludwig Rumpf hat versucht, in einigen Versuchen die »langsame Durchschneidung«, wie ich sie oben beschrieben habe, durch die »rasche Durchschneidung« zu ersetzen, bei der er auf einmal ein vorher ungefähr ausprobiertes Gewicht sanft auflegte, um auf einmal eine Durchschneidung zu erzielen. War das Gewicht zu niedrig, um eine prompte Durchschneidung zu gestatten, so wurde dieser Wert verworfen. Es wurden so erheblich niedrigere Zahlen erhalten — nur 50—30% der Werte nach der langsamen Methode — aber die Relativzahlen zweier zu vergleichender Fleischproben zeigten zu meiner Freude im wesentlichen das gleiche Verhältnis als wie bei der langsamen Methode.

Es waren die Verhältnisse in 3 Reihen:

nach der langsamen Methode:	1:2,42	1:1,62	1:1,14
„ „ raschen „	1:2,18	1:1,39	1:1,09.

Differenzen, wie sie bei der raschen Methode und dem ungleichmäfsigen Material nicht anders zu erwarten sind.

Die gefundenen Zahlen (Gewichtszahlen) sind mit 5 zu multiplizieren, da die Gewichte an einem Hebelarm wirkte, der 5mal länger ist als der, welcher die Schneiden trägt. Ich habe, wo ich Originalzahlen (Versuchsprotokolle) mitteilte, stets die wirklich beobachtete Zahl in Grammen angegeben, aber die Mittel stets in absolute Zahlen durch Multiplikation mit 5 umgerechnet.

III. Vergleich der Zähigkeit von Hautmuskel und Filet des Rindes in rohem Zustand.

Ich teile von den beiden allerersten Versuchen die Originalzahlen mit, um ein ungeschminktes Bild der Leistungen des Apparates zu geben.

Versuch I. Rind. 4 Tage nach der Schlachtung untersucht. Es mufsten zur Durchbeifsung aufgelegt werden:

	Filet g	Hautmuskel g
1	750	1100
2	600	1000
3	400	1100
4	450	1600
5	350	1000
6	600	1400
7	300	1000
8	400	900
9	400	1150
10	450	1400
11	450	
12	400	

Mittel 463 1165
Absolute Zahl 2315 5825 (durch Multiplikation mit 5 erhalten)
Verhältnis 1 : 2,5

Läfst man die beiden extremen Werte jeder Seite 300 und 750 und 900 und 1600 g weg — bei denen man ja unwillkürlich an einen Fehler denkt, so ändert sich das Durchschnittsresultat kaum.

Versuch II. Rind.

	Filet g	Hautmuskel g
1	600	1500
2	650	1200
3	500	1200
4	600	1100
5	500	1250
6	800	1400
7	400	1150
8	400	1000
9	450	1200
10	350	1120
11	250	1050
12	250	1050
13		1200
14		1100

Mittel 479 1180
Absolute Zahl 2395 · 5900 (durch Multiplikation mit 5 erhalten)
Verhältnis 1 : 2,5

Trotz der fatalen Abweichung einzelner Zahlen — was in diesem extremen Grade später kaum je wieder beobachtet wurde, stimmt Durchschnitt und Verhältnis auffallend gut zum ersten Versuch. Ich unterlasse daher im allgemeinen die Mitteilung der Einzelversuche und gebe alle hierhergehörigen Versuche in einer Tabelle.

Nummer des Rindes	Absolute Werte			Verhältnis	Autor
	Lende	Hautmuskel			
1	2315	5825	Weichen-hautmuskel.	1 : 2,5	Lehmann und Schindler
2	2395	5900		1 : 2,5	
3	1930	4860		1 : 2,7	
4	2680	7050		1 : 2,5	
5	2410	6750		1 : 2,9	Rothschild.
6	3120	6385		1 : 2,1	Schauwienold.
7	2000	4000	Flankenhautmuskel	1 : 2,0	»
8	3225	7650		1 : 2,37	L. Rumpf.[1]
9	4380	9900		1 : 2,26	
10	4200	9150		1 : 2,18	
11	3850	9300		1 : 2,42	
12	3050	6650		1 : 2,18	

Aus dieser Tabelle folgt:

1. Mit auffallender Regelmäfsigkeit war die Lende 2,0 bis 2,9 mal leichter zu durchbeifsen als der Hautmuskel, im Mittel aller Versuche war das Verhältnis wie 1 : 2,4.

2. Bei verschiedenen Tieren fanden wir eine nicht unerhebliche Verschiedenheit der Zähigkeit des gleichen Muskels, das zarteste Filet und der zarteste Hautmuskel sind etwa 1,5 mal leichter zu durchbeifsen als die entsprechenden Muskeln der zähesten uns bisher vorgekommenen Tiere. Es ist dabei zweckmäfsig, die älteren Versuche 1—7 und die neueren 8—12 nur untereinander zu vergleichen.

1) Die absoluten Werte von Rumpf sind auffallend höher als die seiner Vorgänger — vielleicht hängt dies zum Teil mit dem allmähligen Stumpfwerden der Schneiden zusammen.

Am Kalbe sind 4 methodische Untersuchungen durchgeführt, welche als absolute Werte ergaben. (Jede Zahl ist das Mittel aus 10—15 Versuchen, die sehr gut untereinander stimmten.)

		Lende	Hautmuskel	Verhältnisse
		g	g	
Kalb I	Die Kälber waren 3—6 Wochen	2090	8825	1:4,2
» II	alt und hatten mindestens	1950	8485	1:4,36
» III	24 Stunden im Kühlhaus ge-	2000	8690	1:4,33
» IV	hangen.	2060	8645	1:4,2
	Oder im Mittel	2035	8660	1:4,3

Es war also die Zähigkeit des Kalbfleisches in den einzelnen Versuchen auffallend ähnlich und die der Lende ganz allgemein etwas über 4mal so klein als die des Hautmuskels, der Unterschied der Zähigkeit der verschiedenen Muskeln also noch weit bedeutender als beim Rind! Die Zähigkeit der Kalbslende entspricht etwa der des zartesten Rindslende, der Hautmuskel war — auf den ersten Blick ein sehr überraschendes Resultat — erheblich zäher als der des Rindes!

Von Schweinefleisch und Hammelfleisch sind bisher nur zwei Untersuchungen gemacht, jede Zahl ist aus 20 — 40 Einzelzahlen abgeleitet:

	Lende	Schlegel
Schweinefleisch	1640	3545
	Lende	Rücken
Hammelfleisch	2150	2350.

Die Zahlen entsprechen unserer Erwartung. Zartes Schweine- und Hammelfleisch entspricht in der Zartheit dem besten Rindfleisch. Hammelrücken und Hammelfilet sind etwa gleich zart, Schweineschlegel ist etwa doppelt so zäh wie Filet.

IV. Die Ursachen der verschiedenen Zähigkeit verschiedener Fleischsorten.

Die grofsen Zähigkeitsdifferenzen von Lende und Hautmuskel konnten a priori in sehr verschiedenen Ursachen begründet sein.

1. War es möglich, dafs die Muskelfasern selbst bei Lende und Hautmuskel eine verschiedene Struktur, eine verschiedene Derbheit besafsen.

2. Konnte die Verbindung der Muskelfasern miteinander durch das Sarkolemm von verschiedener Festigkeit sein.
3. Konnten die einzelnen Muskelfaserbündel in dem einen Falle durch stärkere und derbere, in dem andern Falle durch zartere und dünnere Bindegewebsmassen (Perimysium internum) miteinander verbunden sein.
4. Konnte der bindegewebige Bestandteil des Muskels in dem einen Falle vorwiegend aus gewöhnlichem kollagenem fibrösen Bindegewebe bestehen, währenddem in andern Fällen vielleicht elastische Fasern eine gröfsere Rolle bei der Zusammensetzung des Bindegewebes spielten.

Punkt 1 und 2 haben wir zwar manche Aufmerksamkeit gewidmet, aber nicht mit allzuviel befriedigendem Erfolg.

Der Hautmuskel ist mehr ein weifser, die Lende ein roter Muskel, der Hämoglobingehalt — wie in einer besonderen Arbeit gezeigt ist[1]) — ist beim Hautmuskel 2 — 4 mal kleiner als beim Filet — aber daraus läßt sich nichts bestimmtes über die Festigkeit der Muskelfasern ableiten.

In einer sorgfältigen Studie hat Herr Leo Isak sich vergeblich bemüht, den Nachweis zu führen, dafs in der Dicke der Muskelfasern von Filet und Hautmuskel ein wesentlicher Unterschied bestehe, und daß die Festigkeitsdifferenz vielleicht zum Teil wenigstens darauf zu beziehen sei. Ich führe über diese Untersuchungen folgendes an:

Die Versuche wurden an mehreren Rindern und Kälbern mit möglichst differenten Ernährungs- und Altersverhältnissen angestellt und zwar:

1. an einem abgetriebenen mageren Rinde, Alter 2 Jahre,
2. einem $1^1/_2$ jährigen fetten Rinde,
3. einem mittelstarken 4 jährigen Rinde,
4. einem mageren Kalb, 10 Tage alt,
5. an einem 4 Wochen alten fetten Kalb.

1) K. B. Lehmann mit Werner, Stadtfeld, Mandelbaum, Eiseneauer und Imhof, Über den Hämoglobingehalt der Muskeln. Zeitschrift f. Biol., XLVII.

Die Muskeln wurden dem kurze Zeit zuvor geschlachteten Tiere entnommen, auf freundlichen Rat des Herrn Prof. Dr. Stöhr nach der von Tellyesnicky angegebenen Methode in 30proz. Kalibichromat-Essigsäure 18—24 Stunden fixiert, darauf 3 bis 4 Stunden in fliefsendem Wasser ausgewaschen und in allmählich verstärktem Alkohol gehärtet. Nach 3—4 Tagen wurden sie in Celloidin eingebettet, nach weiteren 2 Tagen geschnitten und in verdünnter Boraxkarminlösung gefärbt. Es wurden sowohl Längs- als Querschnitte angelegt, letztere aber in erster Linie berücksichtigt. Darauf fand die Messung der Faserndicke mit dem Okularmikrometer statt, und zwar benutzten wir Mikroskop Leitz, Okular III, Objektiv 3 beim Rinde, Objektiv 7 beim Kalb.

Für das Gefühl erschien die Muskelsubstanz der Lende weicher, komprimierbarer, verreibbarer als die des Hautmuskels.

Gemessen wurden alle in einem Gesichtsfeld befindlichen Fasern, mit Ausnahme der vereinzelten ganz extrem dicken und dünnen. Bei nicht kreisförmigen Querschnitten berücksichtigten wir stets — wie dies auch Majeda tat — den gröfsten Querschnitt.

In kürzester Form ausgedrückt lautet die Tabelle:

Rind.

Einzelzahlen	Hautmuskel (zäh)			Lende (zart)		
	Grenzwert in Mikra	Mittelwert	Mittelwert aus den Einzelzahlen	Grenzwert in Mikra	Mittelwert	Mittelwert aus den Einzelzahlen
Tier I	30—75	53	54	30—38	34	35
Tier II	30—38	34	35	45—53	49	49
Tier III.	38—45	42	43	38—45	42	42
Mittel der 3 Rinder		43			45	
		Kalb.				
Tier I	17—20	19	18	15—17	16	17
Tier II	22—27	25	25	17	17	17

Werfen wir zuerst einen Blick auf die absoluten Zahlen! Die Fasern des Rindes sind wesentlich dicker ($2—2\frac{1}{2}$mal) als die des Kalbes. Ganz ähnliche Resultate hatte Schwalbe für

den Menschen gewonnen. Während nach ihm z. B. die Durchschnittszahlen für die Fasern des Rectus medialis, Masseter, Biceps und Sartorius des erwachsenen Menschen: 15, 29, 51 und 52 M betragen, betragen sie beim Neugeborenen 10, 8, 12 und 10 M. Die soeben erwähnten Zahlen beweisen die relativ geringe Verschiedenheit der Dicke der Muskelfasern beim Neugeborenen, und unsere für das Kalb gefundenen Mafse entsprechen gleichfalls diesen Beobachtungen. Die Schwankungen im Faserkaliber des Rindsmuskels entsprechen im grofsen und ganzen den bei anderen Säugetieren gefundenen. So betragen die Grenzwerte für die Fasern des M. subcutaneus colli der Maus 38 resp. 76 M; vom Psoas sind keine Werte angegeben.

Im Sinne unserer Fragestellung ergibt sich nichts Brauchbares, im Mittel der 3 Rinderuntersuchungen gibt Hautmuskel und Lende identische Zahlen.

Dagegen steht ganz fest, dafs die möglichst isolierten Bündel des Lendenmuskels viel weicher, zerreibbarer sind als die des Hautmuskels.

Eine Untersuchung einzelner isolierter Bündel mit dem Beifsapparat war nicht möglich, dagegen habe ich die Zugfestigkeit mit Herrn Isaak einem rohen Vergleich unterzogen. Die absoluten Zahlen unterdrücke ich hier, weil die Angaben von Isaak nicht genau verständlich sind, ich gebe vielmehr nur die Relativzahlen:

Verhältnis der Zugfestigkeit von Haut und Filet bei gleichem, sehr dünnem Querschnitt.

Rind I	wie	2,5 : 1
Rind II	wie	2,8 : 1
Rind III	wie	2,3 : 1

Da oben gezeigt ist, dafs sich die Zugfestigkeit etwa wie die Beifsfestigkeit verhält, so dürfen wir wohl annehmen, dafs sich auch für den Dexometer feine Muskelbündel von Lende und Hautmuskel in ihrer Festigkeit wie etwa 2,5 : 1 verhalten. Natürlich beweisen auch diese Resultate nichts über die spezifische

Festigkeit der verschiedenen Muskelsubstanz, sie können ebensogut vom Sarkolemm, Perimysium internum etc. abhängen.

Die Untersuchung des zweiten Punktes ist schwierig. Zerzupft man ein Stück Hautmuskel und ein Stück Filet, so ist ein höchst auffallender Unterschied ohne weiteres zu bemerken. Während sich die Filetbündelchen leicht voneinander trennen lassen und bei einiger Geduld der Auffaserung in einzelne Fasern keine besondere Schwierigkeit erwächst, haften die Hautmuskelfasern sehr fest aneinander, und es entsteht die Frage, ob dies durch einfaches festeres Aneinanderhaften der Sarkolemmschläuche oder durch reichlicheres und derberes zwischengelagertes Bindegewebe zustande kommt. Es könnte beides der Fall sein, nähere Untersuchungen habe ich hierüber nicht angestellt.

Auf die dritte Frage gibt, wie eben erwähnt, schon die einfache Betrachtung des rohen Fleisches eine schlagende Antwort. Unzweifelhaft enthält der Hautmuskel wesentlich gröfsere Massen gröberer und feinerer Bindegewebszüge, welche die einzelnen Muskelbündel verbinden.

Mit Herrn Tillmann habe ich diese Frage einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung unterzogen. Es wurden grofse Querschnitte durch Filet- und Hautmuskelstücke angefertigt, nachdem das Material vorher in Paraffin kunstgerecht eingebettet worden war. Die Schnitte wurden mit verschiedenen Methoden gefärbt, namentlich mit Fuchsin, und dann bei 20facher Vergröfserung photographiert. Was schon die makroskopische Betrachtung gezeigt hatte, ist am Photogramm noch weit deutlicher. In den zwischen den einzelnen Fibrillenbündeln gelegenen, durch die Präparation (Schrumpfung der Muskelbündel im Alkohol) etwas breiter gewordenen Zwischenräumen befindet sich beim Hautmuskel ein sehr deutliches bindegewebiges Strangwerk. Manche dieser Interstitien sind sogar vollständig von demselben ausgefüllt. Ganz anders verhält sich das Filet. In den Zwischenräumen zwischen den Fibrillenbündeln fanden sich nur feine zarte Bindegewebszüge, die zwar dann und wann nicht erhebliche Mengen von Fett einschlossen, die aber niemals derbe Stränge

zeigten. Das Resultat dieser Untersuchungen stimmt vollkommen mit dem überein, was die Betrachtung des frischen Muskels und die Ausschabungsversuche (s. u.) gelehrt hatten.

Für eine quantitative Bestimmung des Bindegewebsgehaltes fehlte es bisher an Methoden. Mit Herrn Schindler habe ich zur ersten Orientierung über den quantitativen Gehalt eines Fleisches an Bindegewebe Versuche derart angestellt, dafs wir das Fleisch und zwar von 7 verschiedenen Tieren je 20 g mit einem mäfsig scharfen Messer schabten, parallel der Faserrichtung. Es zeigte sich sehr bald ein sehr bedeutender Unterschied zwischen Filet und Hautmuskel: Aus dem Hautmuskel war ziemlich leicht die Muskelsubstanz anszuschaben und es blieb dabei ein derbes, zusammenhängendes, weifes Faserwerk zurück, das leicht von den anhaftenden, letzten Muskelpartikelchen in einer für den Versuch genügend genauen Art befreit werden konnte. Viel schwieriger war das Ausschaben der Lende. Hier wurde kein zusammenhängendes Muskelskelett erhalten, sondern es war sehr mifslich, die zarten dünnen, leicht zerreifslichen Bindegewebsfasern vollständig zu gewinnen. Immerhin war bei gröfserer Sorgfalt auch diese Aufgabe mit leidlicher Genauigkeit zu lösen. Das Bindegewebe wurde teils feucht, teils trocken gewogen, teils nach dem Trocknen mit Äther extrahiert und gewogen, nachdem sich gezeigt hatte, dafs das Bindegewebsskelett des Filets noch zahlreiche Fettläppchen einschlofs. Die folgende Tabelle stellt die Versuche anschaulich zusammen. Die doppelt angestellten Versuche 4 und 5a und b zeigen, dafs die Methode mit recht befriedigender Genauigkeit arbeitet.

100 g Rindfleisch liefern Milligramm Bindegewebe.

	Nummer des Tieres						
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
	feucht						
Lende	1555	1538	2 505				2240
Hautmuskel							3760
Wadenmuskel	4620	4300	14 855				
	trocken			trocken und extrahiert			
Lende	690		830	a) 460 b) 421	a) 438 b) 456	464	448
Hautmuskel	2555		4380	a) 1206 b) 1169	a) 1238 b) 1222	1242	1015
Wadenmuskel						1832	

Rechnen wir die absoluten Zahlen in Relativzahlen um, so verhält sich der Bindegewebsgehalt:

	Nummer des Tieres						
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
	feucht						
Filet	1	1	1				1
Hautmuskel	2,9	2,8					1,7
Wadenmuskel . . .			5,94				
	trocken			trocken und extrahiert			
Filet	1,0		1	1	1	1	1
Hautmuskel	3,7			2,7	2,75	2,7	2,26
Wadenmuskel . . .			5,3			3,9	

Das heist, der Gehalt des Hautmuskels an trockenem und fettfreiem Bindegewebe ist etwa 2,3—2,7 mal gröfser als der des Filets.

Um genauere Zahlen für den Bindegewebsgehalt zu erhalten, habe ich im Jahre 1898 Herrn Dr. Schepilewsky veranlafst eine quantitative Bestimmungsmethode für das Bindegewebe auf dem chemischen Wege auszuarbeiten. Die Bemühungen waren von einem befriedigenden Erfolge begleitet, Schepilewsky hat in diesem Archiv (Bd. XXXIV) seine Methode ausführlich beschrieben und mitgeteilt dafs er in 3 Fleischsorten (leider von verschiedenen Tieren) je 2 Bestimmungen mit folgendem Resultat angestellt habe:

Wadenmuskel	a) 0,53 %	Leim
»	b) 0,61 »	»
Glutäus	a) 0,44 »	»
»	b) 0,48 »	»
Filet	a) 0,21 »	»
»	b) 0,19 »	»

Um die Methode für unsere Frage wirklich verwerten zu können, waren natürlich eingehendere Untersuchungen an zwei Fleischsorten des gleichen Tieres notwendig. Mit Herrn Selo habe ich diese Untersuchungen ausgeführt und dabei gesehen, dafs sehr viel für die Bestimmung des Bindegewebes in den

daran reichen Muskeln darauf ankommt, wie vollständig man die bedeckende Faszie, grobe von der Faszie in die Tiefe gehende Bindegewebszüge u. dergl. entfernt. Ein gewisses Mafs von Willkür kommt dadurch entschieden in die Versuchsanordnung hinein da es an einem gröfseren Hautmuskelstück nicht ganz leicht ist, das sichtbare Bindegewebe gerade soweit zu entfernen, wie wir es für die Herstellung unseres Durchbeifszylinders taten. Beim Filet dagegen fielen alle Bedenken weg.

Das Verfahren von Schepilewsky haben wir, nur unbedeutend modifiziert, folgendermafsen verwendet: Nachdem das Fleisch von der aufsen anhaftenden Faszie nach Wunsch befreit war, wurde es fein zerschnitten (Streifchen von 3—4 mm Dicke), mit dem Pistill in der Reibschale zerquetscht, das trübe Wasser durch ein feines Metallsieb gegossen, frisches Wasser zugefügt. Eine nicht unerhebliche Menge von Muskelelementen läfst sich schon durch die geduldige 4—6 malige Wiederholung dieses Verfahrens beseitigen, namentlich aus dem Filet. Der Rückstand kommt nun (statt 16 Stunden) 24 Stunden in eine 5 proz. Natronlauge bei Zimmertemperatur, wodurch das Muskelgewebe gelöst, die kollagene Substanz aufgequollen wird. Die elastischen Fasern bleiben unverändert.

Ist das Bindegewebe genügend von Eiweifs befreit, so filtriert man durch ein mit Watte belegtes Porzellansieb das Bindegewebe ab.

Es gelingt nach gutem Auswaschen so, das Kollagen und Elastin fast absolut frei von Eiweifs zu erhalten. Löst man ein Pröbchen des Rückstands in verdünnter kochender Natronlauge, säuert an und kocht mit Millons Reagens, so findet man, dafs die Flüssigkeit farblos bleibt und nur die Elastinflöckchen eine leichte Rosafärbung annehmen. Leicht überzeugt man sich, dafs schon einige Tropfen einer 1 proz. Albumoselösung ausreichen, um die ganze Flüssigkeit rot zu färben, dafs also der negative Ausfall der Probe wirklich die Entfernung der Eiweifskörper bedeutet.

Die Watte mit dem Bindegewebe wird mit ½ proz. Natronlauge gekocht, das Filtrat enthält alles Kollagen, das Elastin

bleibt mit der Watte auf dem Filter. Die Menge des Leims wird durch Stickstoffbestimmung in dem Filtrat ermittelt, der gefundene Stickstoff durch Multiplikation mit 5,6 nach Hofmeister in Bindegewebe umgerechnet, das Elastin wurde nicht bestimmt.

Alle Bestimmungen wurden doppelt gemacht, wobei je 25 g Muskel Anwendung fanden.

In tabellarischer Übersicht lauten unsere Resultate:

Versuch	Tier	Präparation des Filets	Prozentgehalt des Bindegewebes im Filet	Präparation des Hautmuskels	Prozentgehalt des Bindegewebes im Hautmuskel
I	7 jährige Kuh	Gröbere Bindegewebsstücke entfernt.	A. 0,493 B. 0,533	Alles sichtbar. sehnige Gewebe entfernt.	A. 0,961[1]) B. 0,796
II	3 jähriger Ochse	Absolut alles sichtbar. Bindegewebe entfernt.	A. 0,188 B. 0,188	Gröbere Bindegewebszüge entfernt. Perimysium beiderseits erhalten.	A. 1,473 B. 1,243
III	11 jährig. Kuh	Alles oberflächliche makroskop. sichtbar. Bindegewebe entfernt.	A. 0,423 B. 0,312	Gröbere Bindegewebszüge entfernt. Ein zartes Perimysium erhalten, eine derb. Faszie entfernt.	A. 1,411[2]) B. 1,482
IV	$2^1/_2$—3-jähr. Rind	Bindegewebe von der Oberfläche u. zwisch. den gröb. Muskelpaketen entfernt.	A. 0,323 B. 0,323	Perimysium auf beiden Seiten abpräpariert. Gröb. Faszien und Sehnen bis auf $^1/_2$ cm Tiefe entfernt.	A. 0,774 B. 0,756

Hieraus folgt:

In der Präparation, wie wir die Muskeln verwandten, enthielt das Filet etwa 0,3—0,5, der Hautmuskel 0,8—1,4 % Bindegewebe. Bilden wir Mittel aus diesen Werten (die Zahlen sind dazu natürlich noch zu spärlich), so wäre 0,4 für Filet, 1,2 für den Hautmuskel zu setzen oder ein Verhältnis des Binde-

1) Es war statt Hautmuskel Wadenmuskel verwendet.

2) Mit dem derben Perimysium hatte der Hautmuskel einen Gehalt von 1,94 %.

gewebsgehalts wie 1:3 konstatiert. Diese Zahlen stimmen in ihrer absoluten und relativen Gröfse recht gut mit den oben mitgeteilten mit Schindler nach rascherer Methode ermittelten überein.

Ist es nun durch diese verschiedenen Untersuchungen erwiesen, dafs der Gehalt an Bindegewebe in verschiedenen Muskeln ein sehr verschiedener ist, so handelt es sich viertens darum, festzustellen, ob das Bindegewebe in den einzelnen Muskeln verschieden reich an elastischen Fasern ist oder nicht. Die neuen Färbemethoden der elastischen Fasern sind von uns in ausgedehntem Mafsstabe zu diesem Studium angewendet worden.

Für Übersichtsbilder leistete uns gute Dienste die namentlich im Laboratorium von Bonnet ausgebildete Unnasche Orceinmethode.

Die in Müllerscher Flüssigkeit oder Alkohol gehärteten, mit dem Mikrotom geschnittenen und mit Eiweifs aufgeklebten grofsen Organschnitte kommen in eine Mischung von 2 Teilen: Orcein 0,1; 95 proz. Spiritus 20; aq. dest. 5 und ein Teil Acid mur. conc. 0,1; 95proz. Spiritus 20; aq. dest. 5. Aus der Farblösung brachten wir die Schnitte in Alkohol, welchen wir mehrmals wechselten, bis derselbe keine auffallenden Farbstoffmengen mehr aufnahm. In unsern Präparaten färbte das Orcein stets befriedigend die gröberen Züge der elastischen Fasern, die braunrot auf heller rotem Grunde hervortreten; dagegen hatten wir nie den Eindruck, dafs eine verläfsliche Färbung der feineren Fasern gelungen sei. Wir schieben dies nicht auf die Methode, sondern auf vielleicht ungenügende Erfahrung in ihrer Anwendung. Da wir aber in der Silbermethode eine sehr gute Ergänzung der Orceinmethode fanden, so gaben wir uns weiter mit der ersteren keine Mühe.

Die Silbermethode nach Martinotti wandten wir folgendermafsen an: Frische Stücke von 1 cm Seitenlänge wurden während 24 Stunden in eine 2 proz. Arsensäurelösung gelegt, dann auf 10 Minuten in Müllersche Flüssigkeit, endlich 24 Stunden lang in eine Lösung von 6 g Arg. nitr. in 9 g destilliertem Wasser, wozu 45 g reinstes Glyzerin gefügt wurden. Nach 24 Stunden wurde das Stück herausgenommen, in destilliertem Wasser ab-

gewaschen und in Alkohol gebracht. Mit dem Mikrotom wurden aus den gut gehärteten Stücken ohne Einbettung Längs- und Querschnitte angefertigt, die Schnitte kurze Zeit in physiologische Kochsalzlösung, dann in Kalilauge gebracht und schliefslich in Glyzerin eingeschlossen. Auch einige Versuche, die Schnitte aus der Kochsalzlösung in absoluten Alkohol, Terpentinöl und Kanadabalsam zu übertragen, gaben gute Resultate. Die fertigen Präparate zeigen, wenn sie gut gelungen sind, die Muskelfasern gelblich bis bräunlich gefärbt, die elastischen Fasern schwarz bis braunschwarz, aufserordentlich scharf und deutlich bis in die feinsten Enden hervortretend. Leider leidet diese Methode wie alle anderen Silbermethoden an einer gewissen Launenhaftigkeit, für die uns die Erklärung fehlt. In manchen Präparaten färbten sich nur die gröberen Züge, in anderen störten Niederschläge die Übersicht und nur auf kleinere Strecken erhielten wir tadellose Bilder.

Die Resultate all' dieser Studien lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Das Perimysium internum enthält stets reichlich elastische Fasern. Je dicker die Bindegewebszüge sind, um so mehr elastische Fasern enthalten sie auch, doch scheint die relative Menge der elastischen Fasern im Bindegewebe überall ziemlich gleich.

2. Die elastischen Fasern des Perimysium internum dringen zwischen die einzelnen Muskelfasern ein, umspinnen die Muskelfasern mit einem zarten Maschenwerk, dessen Hauptrichtung in der Richtung des Muskelfaserverlaufes ist. Für den Hautmuskel mit seinem stark entwickelten Perimysium internum ist der Nachweis gelungen, dafs jede Muskelfaser eine ziemlich gleichmäfsige weitmaschige netzartige elastische Umspinnung zeigt, für das Filet haben wir eine ganz gleiche Regelmäfsigkeit bisher nicht nachweisen können. Immerhin zeigen mehrere Präparate, dafs auch hier feine elastische Fasern reichlich und auf kleine Strecken in typischer Weise in netzartiger Anordnung vorhanden sind, so dafs wir die Frage offen lassen, ob nicht an einem tadellosen Präparat vielleicht noch zahlreichere Fasern hervor

treten und die Analogie mit den Fasern des Hautmuskels vollständig wird.

Es unterscheiden sich also nach unseren bisherigen Untersuchungen Hautmuskel und Lende morphologisch namentlich durch den ca. 2,6 mal gröfseren Bindegewebsgehalt des ersteren. Das elastische Gewebe scheint in relativ gleicher Menge im Bindegewebe vorhanden. Das Verhältnis der Zähigkeit entspricht auffallend dem Verhältnis des Bindegewebsgehalts aber auch feine möglichst vom Bindegewebe befreiten Muskelbündel zeigen ungefähr das gleiche Zugfestigkeitsverhältnis.

V. Einflufs des Abhängens auf die Zähigkeit des Fleisches.

Niemand verzehrt frisch geschlachtetes Fleisch ohne Zwang, auch nach gründlichem Kochen pflegt dasselbe zäher zu sein als »abgehängtes«. Über den Grad der Zähigkeitsänderung hat Herr Dr. Schauwienold in meinem Institut sehr zahlreiche Versuche angestellt, über die ich hier nur in sehr abgekürzter Form berichten kann.

Versuch I. a) Roh.

	Hautmuskel Zähigkeit	Hautmuskel Abnahme um %	Lende Zähigkeit	Lende Abnahme um %
1. Tag	6355		3120	
2. Tag	3855	39	2775	27
3. Tag	3090	51	1810	42
4. Tag	2900	54	1835	41
5. Tag	2830	56	1410	55
8. Tag	—	—	1360	56
b) Gekocht 5 Minuten.				
1. Tag	5400	—	4380	—
2. Tag	4215	22	3090	29
3. Tag	3500	35	2870	36
4. Tag	3420	37	3520	19
5. Tag	3180	41	3200	27
8. Tag	—	—	3100	29
c) Gekocht 1/2 Stunde.				
1. Tag	5000	—	4950	—
2. Tag	3435	31	3240	35
3. Tag	2660	47	2780	44
4. Tag	3595	28	2845	43
5. Tag	2490	50	2470	50
8. Tag	—	—	2420	51

Versuch II. a) Roh.

	Hautmuskel Zähigkeit	Hautmuskel Abnahme um %	Lende Zähigkeit	Lende Abnahme um %
1. Tag	4010		1975	
2. Tag	3200	22	1870	5
3. Tag	3010	25	1730	12
4 Tag	2820	30	1700	14
5. Tag	2780	31	1630	17
8. Tag	2715	32	1465	26
b) Gekocht $^1/_2$ Stunde.				
1. Tag	3210	—	2940	—
2. Tag	2915	9	2715	8
3. Tag	2585	19	2675	9
4. Tag	2400	25	2705	8
5. Tag	2440	24	2660	10
8. Tag	2375	26	2480	16

Versuch III von Dr. Rothschild.

a) Roh.

1. Tag	6750	—	2415	—
2. Tag	7475	10	2375	2
3. Tag	5185	23	1650	32
4. Tag	5875	13	1810	25
8. Tag	5150	24	1725	29
b) Gekocht 1 Stunde.				
1. Tag	2860	—	2350	—
2. Tag	3560	24	2310	15
3. Tag	2435	15	2385	41
4. Tag	2575	10	1610	31
8. Tag	2625	8	1125	31 [1]

Endlich hat Herr Jaeth bei Gelegenheit seiner Versuche über die Wirkung des Gefrierens (s. u.) auch Beiträge zu unserer Frage geliefert, aber nur die Veränderung des rohen Muskels durch das Abhängen berücksichtigt.

Versuch IV. 5jähriges Rind.

	Hautmuskel Zähigkeit	Hautmuskel Abnahme um %	Lende Zähigkeit	Lende Abnahme um %
1. Tag	6050		2480	
2. Tag	5520	9	2365	5
3. Tag	5270	13	2410	3
4. Tag	4590	24	2015	19

1) Anhangsweise sei noch ein Versuch von Herrn Gunkel mitgeteilt. Derselbe fand nur für Filet:

ganz frisch 2000, 6 Tage alt, 1695, 13 Tage alt 1320.

Versuch IV a.

Vollständig unabhängiger Kontrollversuch zu Versuch IV am gleichen Material.

	Hautmuskel		Lende	
	Zähigkeit	Abnahme um %	Zähigkeit	Abnahme um %
1. Tag	6160		2620	
2. Tag	5550	10	2340	11
3. Tag	5420	12	2410	6
4. Tag	4650	25	1965	25

Zwei weitere Versuche von Herrn Jaeth sind nur mit Vorbehalt zum Vergleich zu verwenden, da sie nach einer etwas anderen Methode ausgeführt sind. Die Schneiden wurden arretiert, wenn dieselben noch 1 mm weit von einander entfernt waren, während sie in den übrigen Versuchen das Fleischstückchen inkl. das Bindegewebe total zu durchbeifsen hatten.

Immerhin zeigen auch diese Versuche die Wirkung des Abhängens.

Versuch V.

	Hautmuskel		Filet	
	Zähigkeit	Abnahme um %	Zähigkeit	Abnahme um %
1. Tag	3200		2450	
2. Tag	2720	34	1735	29
3. Tag	2050	36	1525	38
4. Tag	1915	40	1450	41
5. Tag	1770	45	1415	42

Versuch VI.

1. Tag	3750	—	2475	—
2. Tag	2700	28	1810	27
3. Tag	2515	33	1685	32
4. Tag	2300	40	1600	35
5. Tag	—	—	—	—

Die Versuche beweisen klar, dafs rohes Fleisch beim Aufbewahren bald rascher bald langsamer um 20—40, seltener bis 50% an Zähigkeit abnimmt. Die Abnahme war in den ersten zwei Versuchen nach 24 Std. schon überraschend stark, nach 48 Std. meist schon ziemlich maximal. Genauere Resultate zu erhalten ist namentlich beim unregelmäfsig gebauten Hautmuskel schwierig. Die scheinbare Zunahme bei Versuch III nach 24 Std. ist natürlich durch Untersuchung eines zufällig zäheren Stückchens zu erklären. Sehr regelmäfsig aber langsam war die

Abnahme in Versuch IV, fast plötzlich in den nach abweichendem Plan angestellten Versuchen V und VI. Die Wirkung des Abhängens spricht sich auch bei der Untersuchung gekochter Stücke aus. Betrachten wir das Resultat des 5 oder 30 oder 60 Minuten lang dauernden Kochens: fast stets finden wir 20—30% Zähigkeitsabnahme gegenüber dem nicht abgehängten gekochten Fleisch. Auch in diesen Versuchen ist — durch die Ungleichheiten des Materials bedingt — die Abnahme der Zähigkeit keine durchwegs gleichmäfsige, wenn auch im allgemeinen zwischen dem 2. und 4. Tag das Maximum der Abnahme liegt. Versuch II zeigt relativ kleine aber sehr regelmäfsige Abnahmen.

Die Ursache der Zähigkeitsabnahme beim Aufbewahren dachte man sich früher meist so, dafs die bei der Totenstarre gebildete Säure lösend oder lockernd auf gewisse Muskelbestandteile wirken soll. Versuche, Muskelstücke nach mehrtägigem Aufenthalt in Essig zu durchbeifsen, zeigten aber keine verminderte Zähigkeit der so präparierten Stücke. Überhaupt spricht sehr viel dafür, die Zähigkeitsabnahme beim Aufbewahren als durch eine Art Autolyse bedingt anzusehen. In dem Umstand, dafs die Zähigkeitsabnahme im Anfang rasch voran geht aber bald nur noch langsam weiter zunimmt, ist nur eine Analogie zu vielen Fermentationsvorgängen zu sehen.

VI. Einflufs der Kälte auf die Zähigkeit des Fleisches.

In manchen Gegenden setzt man, um das Fleisch zart zu machen, dasselbe gern im Winter starker Kälte aus. Eingehende Versuche von Herrn Jaeth an Fleisch von 3 Tieren bestätigte die starke Wirkung der Kälte.

Die zu untersuchenden Fleischstücke wurden stets in die üblichen 1,2 cm dicken Stränge verwandelt und in Abständen mit Ligaturen versehen. Während dann der eine Strang direkt mit der Beifsmaschine untersucht wurde, kam der andere in eine verschliefsbare Messinghülse von ca. 1,3 cm lichter Weite und mit dieser in eine Kältemischung aus 2 Teilen pulverisierten

Eis und 1 Teil Kochsalz. Die Temperatur von – 20 bis — 15° wurde teils 2, teils 6 Std. einwirken gelassen und die Stränge nach dem Auftauen auf ihre Festigkeit geprüft.

Versuch I.

	Hautmuskel			Abnahme um %		Filet			Abnahme um %	
	ungefroren	2 Stdn. gefror.	6 Stdn. gefror.	durch 2 Stdn	durch 6 Stdn.	ungefroren	2 Stdn. gefror.	6 Stdn. gefror.	durch 2 Stdn.	durch 6 Stdn.
Am 1. Tag	6050	4060	3830	33	37	2480	2195	2125	11	15
» 2. »	5520	3860	2800	30	49	2365	2095	1790	11	26
» 3. »	5270	3270	2450	38	54	2410	1950	1645	19	32
» 4. »	4590	3080	2270	33	51	2015	1610	1460	20	28

In zwei anderen, doppelt angestellten [1]) Versuchsreihen, welche nicht ohne weiteres mit den übrigen vergleichbar sind, weil hier die Schale nur soweit belastet wurde, bis die Fleischzylinder bis auf 1 mm durchgebissen waren, fand Herr Jaeths

Versuch II. Rind, 4 Jahre alt, gut genährt.

	Hautmuskel			Abnahme um %		Filet			Abnahme um %	
	ungefroren	2 Stdn. gefror.	6 Stdn. gefror.	durch 2 Stdn.	durch 6 Stdn.	ungefroren	2 Stdn. gefror.	6 Stdn. gefror.	durch 2 Stdn.	durch 6 Stdn.
Am 1. Tag	3200	2340	1170	27 (41)	63 (71)	2450	1795	1130	27 (18)	54 (54)
» 2. »	2120	1205	1105	43 (38)	48 (50)	1735	1040	990	40 (34)	43 (38)
» 3. »	2050	1205	1135	41 (37)	45 (48)	1525	1190	1100	22 (20)	28 (31)
» 4. »	1915	1055	1015	45 (38)	47 (46)	1450	1000	995	31 (24)	34 (33)
» 5. »	1770	1045	995	41 (34)	45 (45)	1415	985	995	30 (23)	33 (31)

Versuch III. Rind, 6 Jahre alt, schlecht genährt.

Am 1. Tag	3750	2795	1600	33 (33)	37 (38)	2875	1920	1205	11 (15)	15 (19)
» 2. »	2700	1835	1510	30 (31)	49 (49)	1800	1245	1140	11 (11)	26 (23)
» 3. »	2515	1895	1565	38 (35)	54 (57)	1687	1205	1135	19 (22)	32 (34)
» 4. »	2330	1730	1550	33 (35)	51 (53)	1600	1050	1025	20 (23)	28 (25)

1) Die Tabellen enthalten nur die Originalzahlenmittel je einer Versuchsreihe, nicht die der Kontrollreihe, dagegen habe ich eingeklammert auch die prozentualen Werte der Kontrollreihe hingesetzt.

Aus diesen Versuchen ergibt sich übereinstimmend:

1. Gefrieren und Wiederauftauen vermindert die Zähigkeit der Muskeln.
2. 6stündiges Gefrierenlassen wirkt ausnahmslos stärker als 2stündiges, doch tritt dieser Unterschied nicht immer gleichstark hervor. In Versuch I, in dem eine totale Durchbeifsung ausgeführt wurde, war die Wirkung stärker als im Versuche II und III.
3. Abgehängtes Fleisch vom 2.—5. Schlachttag wurde in der Regel etwas stärker durch das Gefrieren beeinflufst als ganz frisches.
4. Während Hautmuskel durchschnittlich in 2 Std. etwa um 30—40% zarter wurde, nahm beim Filet die Zähigkeit nur um 11—30 ab. In 6 Std. wurde der Hautmuskel meist ca. 50% zarter, das Filet nur etwa 30%.

Es ist also das Gefrierenlassen eine sehr wirksame Methode, die Zähigkeit des rohen Fleisches zu vermindern.

VII. Über den Einflufs des Kochens auf die Fleischzähigkeit nebst Untersuchungen über die Veränderung des Volumens und des Wassergehaltes durch das Kochen.

Es wurde die Mehrzahl der Fleischsorten, über deren Untersuchung im rohen Zustande oben berichtet wurde, auch im gekochten Zustande untersucht und zwar wurden zu diesem Zwecke erst mit Fadenumschnürungen versehene Streifen hergestellt und diese dann gekocht. Ein mäfsiges Aufquellen von 1,2 auf etwa 1,5 cm, das einige Mal beobachtet wurde, haben wir nicht bei der Mitteilung der Zahlen in Rechnung gezogen, da es nicht konsequent notiert war.

Diese Versuche habe ich schon 1896 mit Gunkel und Tillmann begonnen, auch Schauwienhold hat eine Reihe solcher Experimente ausgeführt. Das Resultat der Versuche

war von Anfang an ein sehr auffallendes und charakteristisches, die Deutung aber machte Schwierigkeiten. Ich gebe von diesen älteren Versuchen nur die Übersichtstabelle und unterlasse es, Einzelheiten anzuführen.

Wirkung eines 1—1½ stündigen Kochens auf 1,2 cm dicke Fleischstreifen. Direkt abgelesene Werte.

Nummer	Lende					Hautmuskel					Kochdauer
	roh	gekocht				roh	gekocht				
Rind 1 . . .	463	421				1165	360				1½ Stunden
Rind 2 . . .	479	421				1180	618				1 Stunde
Rind 3 . . .	386	1 h: 361	2 h: 360	3 h: 390	6 h: 314	942	1 h: 419	2 h: 289	3 h: 215	6 h: 125	
Rind 4 . . .	339	1½ h: 464	3 h: 450	5 h: 429	—	—	—	—	—	—	
Mittel	417	422				1096	444				
Absolute Werte	2085	2110				5480	2220				

Daraus ist zu schliefsen:

Während frischer Hautmuskel etwa 2,63 mal so zäh ist wie Filet, ist gekochter Hautmuskel nach 1—1½ stündigem Kochen etwa ebenso zart wie gekochtes oder rohes Filet. Das Filet ändert durch Kochen seine Zartheit überhaupt nicht bedeutend, meist fanden wir eine geringe Abnahme, nur bei Rind IV, dessen Filetfleisch roh sehr zart gewesen war, eine etwas erheblichere Zunahme.

Bei länger dauerndem Kochen bis zu 3 Stunden verändert sich die Zartheit des Filets auch nicht mehr wesentlich, dagegen nimmt die Zähigkeit des Hautmuskels nach der 1. Stunde noch bedeutend ab, aber auch von der 2 zur 3. Stunde geht noch eine weitere Zähigkeitsabnahme vor sich, *nach dieser Zeit kehrt sich das Verhältnis der Zähigkeit der beiden Fleischsorten um, jetzt ist geradezu der Hautmuskel zarter als das Filet.* — Von dem Resultat nach 6 stündigem Kochen will ich nichts weiter sagen, weil die Muskelfasern nach dieser Zeit kaum mehr zusammenhängen.

Um genaueres zu erfahren, habe ich Herrn Dr. Ludwig Rumpf veranlafst, die ganze Frage des Einflusses des Kochens einer besonderen Untersuchung zu unterziehen. Ich drucke auch diese sorgfältigen Versuche hier nur teilweise ab, weil der Einzelversuch bei der wechselnden Beschaffenheit des Fleisches wenig Wert hat und nur Mittel aus gröfseren Reihen wirkliche Schlüsse gestatten. Rumpf hat sehr viel Sorgfalt angewendet, mit Fleisch von genau bekannter und sehr stark variierter Kochdauer gearbeitet und fast von jeder Kochdauer 3 parallele Reihen durchgeführt. Die eine Reihe untersuchte die Festigkeit des gekochten Fleisches, nachdem man den 1,2 cm dicken Fleischstreifen einfach gekocht hatte, die zweite Reihe beschäftigte sich mit Streifen, welche vor dem Kochen alle Zentimeter weit fest mit Bindfaden umbunden waren, die dritte wurde an Fleischstreifen ausgeführt, die in einer genau 1,2 cm weiten Zinnröhre eingeschlossen gekocht worden waren. Es zeigte sich bei späteren Spezialuntersuchungen, dafs diese drei Reihen kaum verschiedene Resultate geben konnten, denn die Voraussetzung, von der aus sie ausgeführt waren, war nicht richtig. Ich hatte gelegentlich Fleischstückchen beim Kochen kürzer und erheblich dicker werden sehen und mir die Vorstellung gebildet, dafs dies der normale Vorgang sei. Rumpf konnte aber zeigen, dafs blofs lebend frische Fleischstückchen beim Kochen dicker (und dabei sehr kurz) werden, während einige Stunden nach dem Schlachten das totenstarre Fleisch beim Kochen in allen Dimensionen kleiner wird, ob man das Fleisch frei kocht oder ob man es in eine Zinnröhre einschliefst, welche ein Dickerwerden beim Kochen unmöglich macht. Auch umbundene Stückchen — welche in der Regel zwischen den Ligaturen beim Kochen etwas vorquellen — zeigen keine erhebliche Dickenzunahme.

Zunächst setze ich ein Beispiel eines Versuchs (S. 163) ausführlich her.

Die prozentualen Mittelwerte aller seiner Versuche gibt Tabelle (S. 164), in die ich die Generalmittel eingesetzt habe, weil ich auf eine Diskussion der verschiedenen feineren Abänderungen des Kochens verzichte.

Zähigkeitsbestimmungen des Lenden- und Hautmuskels
($1^1/_2$ jähr. Rind, Rind II)
in rohem Zustand und nach Kochen ohne und mit Einschlufs in eine Zinnröhre, sowie gebunden.

	roh	15 Min. gekocht			30 Min. gekocht			1 Stunde gekocht			2 Stunden gekocht		
		einfach g	gebund. g	in Z.-R. g	einfach g	gebund. g	in Z.-R. g	einfach g	gebund. g	in Z.-R. g	einfach g	gebund. g	in Z.-R. g
a) Lende.													
	800	550	1300	1500	1000	1700	1000	950	850	1050	550	850	850
	900	850	1250	900	900	1050	1000	1150	950	1100	550	750	700
	900	1000	1100	950	800	1650	1300	1100	950	1050	600	750	650
	750	1050	1350	1000	800	1750	800	1000	1050	1050	650	700	900
	950	950	1350	950	600	1150	1100	900	850	1100	650	800	700
	1050	750	1150	1000	650	1150	1150	700	1150	800	700	500	900
	1000	800	1400	950	850	1500	900	800	900	950	500	600	850
	750	1200	950	1100	900	1000	1200	950	650	950	750	550	600
	850	1000	1600	1050	850	900	1050	950	850	850	600	800	750
	800	1000	750	850	600	700	900	950	750	1100	700	750	900
Mittel der abgelesen. Zahlen	875	915	1220	1025	795	1255	1040	945	895	1000	625	705	785
b) Hautmuskel.													
	2150	1000	1100	1150	600	900	900	400	350	750	700	750	850
	2100	700	1350	1550	400	850	950	550	500	600	600	950	1100
	1950	800	1200	1200	500	700	700	550	700	850	650	1100	900
	1850	700	1350	1500	550	750	850	450	450	600	800	1000	800
	2250	1050	1000	1550	600	500	900	450	650	1200	700	850	1000
	2200	700	1050	1250	700	950	950	650	400	1400	850	700	850
	2050	1150	700	1650	650	950	500	300	400	850	700	1050	850
	1700	950	700	1500	650	1050	850	650	850	1150	800	1100	800
	1750	1000	800	1200	750	950	900	300	450	850	1000	1050	850
	1800	1000	1100	1350	550	750	550	700	500	900	750	900	800
Mittel der abgelesen. Zahlen (unmultipliziert)	1980	905	1035	1390	595	835	805	500	525	915	755	945	880
c) Zähigkeitsverhältnis der Lende zum Hautmuskel.													
	1 : 2,26	1 : 0,99	1 : 0,85	1 : 1,35	1 : 0,75	1 : 0,67	1 : 0,78	1 : 0,52	1 : 0,58	1 : 0,92	1 : 1,21	1 : 1,34	1 : 1,12

Zähigkeitsbestimmungen in $^0/_0$ der Anfangszähigkeit bei verschiedener Kochdauer.

a) Lende.

	roh	5 Minuten gekocht			15 Minuten gekocht			30 Minuten gekocht			1 Stunde gekocht			2 Stunden gekocht		
		einfach	gebund	in Z.-R.	einfach	gebund.	in Z.-R.	einfach	gebund.	in Z.-R.	einfach	gebund.	in Z.-R.	einfach	gebund.	in Z.-R.
Rind I . .	100	—	—	—	—	—	—	72	—	93	93	—	81	90	—	50
Rind II .	100	—	—	—	105	139	117	91	143	119	108	102	114	71	81	90
Rind III .	100	124	112	101	92	118	102	88	112	69	98	101	62	—	—	—
Rind IV . .	100	103	—	—	—	—	—	116	—	—	—	—	—	—	—	—
Mittelwert .	100	114	112	101	99	129	110	92	128	94	100	102	86	81	81	70
Generalmittel			108			113			105			96			84	

b) Hautmuskel.

Rind I . .	100	—	—	—	—	—	—	35	—	46	42	—	57	46	—	65
Rind II . .	100	—	—	—	45	52	70	30	42	40	25	26	46	38	47	44
Rind III . .	100	47	54	57	42	39	43	39	49	36	42	37	39	—	—	—
Rind IV . .	100	69	—	—	—	—	—	54	—	—	—	—	—	—	—	—
Mittelwert .	100	58	54	57	44	46	57	40	46	41	36	32	47	42	47	55
Generalmittel			56			49			42			38			48	

Man sieht, Rumpfs Versuche stimmen prinzipiell durchaus zu den früheren. Sie zeigen im einzelnen folgendes:

1. Lende wird durch Kochen während 2 Stunden in ihrer Zähigkeit nicht sehr wesentlich verändert. Es läſst sich aus den Generalmitteln sehr wahrscheinlich machen, daſs die Zähigkeit nach 5 Min. um etwa 8 $^0/_0$, nach 15 Min. um etwa 13 $^0/_0$ zugenommen habe, nach 30 Min. wurde noch 5 $^0/_0$ über nach 1 Std. 4 $^0/_0$ unter der Anfangszähligkeit gefunden, nach 2 Std. betrug sie 16 $^0/_0$ weniger als zu Beginn. Es muſs aber zugegeben werden, daſs unsere Methode nicht so scharf, und vor allem, daſs das Fleisch nicht so homogen ist, daſs man die eben vorgetragenen Schlüsse mit absoluter Schärfe formulieren kann.

2. Hautmuskel ändert dagegen seine Festigkeit — wie wir von Anfang an fanden — in ganz auffallender Weise. Schon 5 Min. genügen, um die Zähigkeit auf 56% herabzusetzen, nach 15 Min. beträgt sie 49, nach 30 Min. 42, nach 1 Std. 38 und nach 2 Std. 49%, d. h. sie wird nach kurzem Kochen fast auf die Hälfte herabgesetzt und sinkt bis auf 38%. Die nachträgliche Steigerung auf 49% halte ich vorläufig für eine Täuschung durch Zufälligkeiten des Materials.

Über das tatsächliche Verhalten der zähen und zarten Muskeln, als deren Typen wir Haut- und Lendenmuskeln gewählt haben, besteht somit kein Zweifel — schwierig ist aber von Anfang an die Erklärung erschienen und ich kenne heute noch keine ganz befriedigende Deutung.

A priori sollte man erwarten, dafs ein gekochter Muskel fester werde. Der Muskel zieht sich in allen Dimensionen zusammen, prefst Wasser aus und wird dichter, gequollene Eiweifskörper werden fest — dies mufs eine gewisse Festigkeits- resp. Zähigkeitsvermehrung zur Folge haben. Die gefundenen Verhältnisse beim Lendenmuskel entsprechen etwa dem, was man erwarten sollte: Eine bald einsetzende mäfsige Festigkeitszunahme, die allmählich zurückgeht. Dafs sie zurückgeht und ev. ein Stück weit ins Gegenteil umschlägt, habe ich von Anfang an darauf bezogen, dafs das kollagene Bindegewebe beim Kochen zu Leim wird, dafs also an Stelle fester schwerer zerschneidbarer Bündel eine widerstandslose Masse tritt.

Ich habe mit Tillmann sofort Versuche angestellt, um das Verschwinden der Bindegewebsfestigkeit beim Kochen zu beweisen. Sehnen bestehen vorwiegend aus kollagenem Gewebe, dem nur wenig elastisches Gewebe eingelagert ist. Aus Rindssehnen wurden 1,2 cm im Durchmesser messende Bündel geschnitten und dieselben dann gekocht von 7½ Min. bis 5 Stunden. Die Sehnen quollen dabei etwas und zeigten eine zunehmende, gegen Ende des Versuchs ganz aufserordentlich starke Festigkeitsabnahme.

Veränderung der Zähigkeit einer Sehne beim Kochen.

	roh	gekocht					
		7½ Min.	¼ Std.	½ Std.	1 Std.	2 Std.	5 Std.
1	5700	3900	2300	3600	4200	1000	50
2	4000	2700	3400	2000	2000	900	50
3	5700	4400		1600	2100	700	40
4	4000	4000			1900	800	60
5	3500					700	
6	4900					500	
7	4700					600	
8	6300						
9	6000						
10	7200						
Durchschnittsbelastung	5200	3750	2850	2400	2050	743	50
Zähigkeit in % der Anfangszähigkeit . . .	100	72,1	54,8	46,1	39,4	14,3	0,96

Die Kurve der Abnahme ist durch beifolgende Kurve sehr anschaulich ausgedrückt.

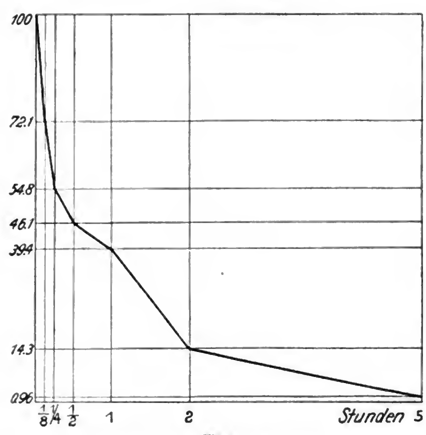


Fig. 2.
Ordinaten: Festigkeit in % der Anfangsfestigkeit, Abszissen: Zeit.

Ich füge hier gleich an, dafs sich, wie zu erwarten, das elastische Gewebe, das beim Kochen nicht zu Leim wird, sondern das im wesentlichen unverändert zu bleiben scheint, ganz anders verhält — ich möchte aus den Zahlen nicht zuviel schliefsen, die Bestimmungen sind nicht bei allen Kocharten hinreichend zahlreich.

Nackenband.

	roh	gekocht			
		1/4 Std.	1 Std.	1 3/4 Std.	5 Std.
1	2500	2200	2000	3000	3000
2	3000	2400	2400	3400	3300
3	3000	2500	2000	3200	3300
4	2500	2000	1500	3500	3400
5	2700		2000	3900	
6	2700			2000	
7	3300			3000	
8	3000			2900	
9	2600			2900	
10	3100			3500	
11	2900			3800	
12	3400			2500	
13	3000			2900	
14	2500				
15	3000				
16	3600				
17	2700				
18	2700				
19	2500				
20	3400				
21	3100				
22	2500				
23	3100				
24	2800				
25	2900				
Durchschnittsbelastung	2900	2275	1980	3115,4	3250
Zähigkeit in °/₀ der Anfangszähigkeit . . .	100	78,4	68	107,4	112

Nach diesen Darlegungen darf ich wohl sagen, dafs ich das geringe Zunehmen und spätere geringe Abnehmen der Lendenzähigkeit sehr wohl verstehen resp. erklären kann. Anders liegen die Verhältnisse für den Hautmuskel.

Ich ging von der Meinung aus, dafs es wohl am plausibelsten sei, die zunehmende Zähigkeitsabnahme mit der allmählichen Zerstörung resp. Lösung des kollagenen Gewebes zu erklären — mufs aber zugeben, dafs es — ganz abgesehen von dem Nichtverschwinden des elastischen Gewebes — sehr auffallend ist, dafs schon nach 5 Minuten die Zähigkeit auf 56% herabgeht, und dafs 1—2stündiges Kochen sie nur auf 48—38% vermindert. Dafs das kollagene Gewebe in 5 Minuten erheblich zu Leim verwandelt sei, glaube ich nicht, und niemand wird es glauben, der ein 5 Minuten gekochtes Fleischstückchen zerzupft und sich von der Zähigkeit und Intaktheit des Bindegewebegerüstes überzeugte.

Für diese erste starke Zähigkeitsabnahme hat Rumpf die Erklärung versucht: Sie werde bedingt durch Entspannung des Bindegewebes in dem geschrumpften Fleischstück. Das entspannte Bindegewebe setzt den Zähnen des Apparates lange nicht den Widerstand entgegen wie gespanntes Gewebe. Der Beifsapparat durchschneide glatt eigentlich nur die Muskelfasern, die Bindegewebszüge würden stets nur teilweise durchschnitten und mehr nur vor den Schneiden hergeschoben. Seien nun die Bindegewebszüge entspannt durch Schrumpfen des Fleisches und damit leichter dehnbar geworden, so erleichtere dies das Eindringen der Schneiden sehr.

Ich mufs gegen diese Erklärung das Bedenken äufsern, dafs das Bindegewebe, wie selbst Rumpf (S. 26 seiner Dissertation) gezeigt hat, ein besonders starkes Kontraktionsvermögen beim Kochen besitzt, ein Kontraktionsvermögen, das dasjenige des Fleisches sogar übertrifft. Es träte demnach die von Rumpf vermutete Entspannung gar nicht ein.

Bei nochmaliger Überlegung aller Möglichkeiten komme ich zu keiner definitiven Erklärung, ich glaube wohl dieselbe in Veränderungen des Bindegewebes suchen zu müssen, ohne ihre Art angeben zu können. Die Veränderungen müssen sehr wirksam sein, da sie die Wirkung des Dichterwerdens der Muskelsubstanz überkompensieren.

Eine Vermutung, die ich mit allem Vorbehalt gebe, wäre etwa folgende:

Die Elastizität des Muskelgewebes ist gering im Verhältnis zum Bindegewebe. Alle Muskeln werden durch Schwinden der Muskelelastizität beim Kochen etwas leichter durchschneidbar, durch Gerinnen des Muskeleiweifses etwas schwerer durchschneidbar. Diese beiden Faktoren kompensieren sich ungefähr.

Anders liegt die Sache mit dem Bindegewebe; dasselbe verliert anfangs an Schwerdurchschneidbarkeit durch Abnahme seiner Elastizität, später durch Übergang in Leim. Sowie das hochelastische Bindegewebe koaguliert ist, ist es viel leichter zu durchschneiden wie vorher, es nimmt also die Durchschneidbarkeit des bindegewebsreichen Hautmuskels viel stärker ab als die des Lendenmuskels, und die Raschheit der Kochwirkung an den dünnen Stücken wäre erklärt.

Anhangsweise gebe ich noch einige Zahlen für die Veränderung anderer Fleischsorten durch Kochen, und zwar teile ich die unmultiplizierten Mittelzahlen aus je 20—30 Einzelversuchen mit:

	Filet		Schlegel		Kochdauer
	roh	gekocht	roh	gekocht	
Schwein	338	166	709	136	1,5 Stdn.
Verhältnis	1	:	2,1		
	1 :	0,5	1 :	0,19	1,5 »
	Filet		Rücken		
Hammel	432	290	470	151	1,5 Stdn.
Verhältnis	1	:	1,09		
	1 :	0,67	1 :	0,32	1,5 »

Das zartere Fleisch (Filet) verändert sich auch in diesen Versuchen durch Kochen weniger als das zähere (Schlegel und Rücken), doch ist auffallend die starke Zähigkeitsabnahme des Filets bei Schwein und Hammel gegenüber dem Rind, auch Schlegel und Rücken zeigen ganz gewaltige Zähigkeitsabnahme.

In möglichster Kürze seien hier noch die von Rumpf auf meine Veranlassung ausgeführten Versuche über die Veränderungen des Volumens und Wassergehalts von Fleischproben beim Kochen angeführt.

I. Versuche an 4 Rindern über den Wassergehalt des verschiedene Zeiten gekochten Fleisches.

Für die Untersuchungen auf Wassergehalt wurde folgender Weg eingeschlagen. Von Haut- und Lendenmuskeln wurden sowohl rohe als auch gekochte Fleischmengen von je 10, 20 bzw. 50 g auf 0,1 genau abgewogen, hierauf möglichst klein zerschnitten und in Schalen im Trockenkasten einer Hitze von 80° ausgesetzt. Nach 24 Stunden wurde der Rückstand gewogen und nach weiterem, 24 Stunden langem Verweilen im Trockenkasten nochmals kontrolliert, wobei die neue Gewichtsverminderung höchstens einige Zentigramm betrug.

Um zur Gewichtsbestimmung die gekochten Fleischmassen vom adhärierenden Wasser möglichst zu befreien, liefsen wir die Proben bei den Untersuchungen an Rind I und II (Versuch a) gut ablaufen, für Rind II (Versuch b) nach Ablaufen des Wassers $^1/_2$ Stunde an der Luft trocknen, und in den beiden letzten Versuchsreihen, Rind III und IV, trockneten wir sie sogleich durch Abtupfen mit Filtrierpapier. Ich will nicht verschweigen, dafs keines von den drei Verfahren uns vollständig befriedigen konnte, da kleine Fehlerquellen bei allen drei Methoden vorhanden sind und dem subjektiven Ermessen ziemlicher Spielraum bleibt.

	100 g rohes Fleisch	100 g gekochtes Fleisch		
		15 Min.	30 Min.	$1^1/_2$ Stdn.
a) Lende.				
Rind I	77,0	70,0	62,5	60,8
Rind II	75,6	66,4	63,4	61,8
Rind II	76,5	66,5	66,0	61,3
Rind III	77,2	70,8	65,6	65,8
Rind IV	77,0	70,0	69,0	66,0
Wassergehalt, Mittelwert	76,7	68,7	65,3	63,1
b) Hautmuskel.				
Rind I	73,0	67,5	66,0	63,5
Rind II	73,8	72,2	68,8	64,0
Rind II	74,5	72,5	69,5	66,5
Rind III	74,6	68,2	69,2	67,4
Rind IV	75,0	74,0	73,0	70,0
Wassergehalt, Mittelwert	74,2	70,9	69,3	66,3
c) Wassergehaltsunterschied.				
Gehalt der Lende	+ 2,5 %	— 2,2 %	— 4,0 %	— 3,2 %

Es enthält demnach der rohe Lendenmuskel durchweg etwa 2,5 % Wasser mehr wie der rohe Hautmuskel, der wasserreichere (d. h. an Muskelsubstanz reichere) an Bindegewebe ärmere Lendenmuskel verliert beim Kochen mehr Wasser als der Hautmuskel, so dafs die gekochte Lende in allen Stadien der Kochung trockener ist als der Hautmuskel. An dem Wassergehalt des gekochten Hautmuskels ist die Wasseraufnahme seines Bindegewebes beim Kochen beteiligt.

II. Versuche an 3 Rindern über die Gewichtsabnahme des Fleisches und die Gewichtszunahme des Bindegewebes beim Kochen.

Das Fleisch wurde in rohem Zustand gewogen und zerschnitten; die relativ starke Gewichtsabnahme bei Rind II erklärt sich durch halbstündige Trocknung des zerschnittenen Fleisches an der Luft nach sorgfältigem Ablaufenlassen des Kochwassers, während bei III und IV blofs Wasser ablaufen gelassen wurde.

Anfangs-Gewicht in rohem Zustand		Gewicht gekocht in % des Rohgewichts 15 Min.	30 Min.	$1^1/_2$ Std.
a. Lende:				
Rind II	20 g	54,5	51,5	50,0
» III	50 g	72,0	65,4	62,0
» IV	50 g	64,8	60,0	58,4
Mittelwert in % (aus III u. IV)		68,4	62,7	60,2
Gewichtsverlust in %		— 32,6	— 37,3	— 39,8
b. Hautmuskel:				
Rind II	20 g	66,0	62,0	61,0
» III	50 g	70,6	65,0	61,2
» IV	50 g	79,2	73,2	70,4
Mittelwert in % (aus III u. IV)		74,9	69,1	65,8
Gewichtsverlust in %		— 25,1	— 30,9	— 34,2
c. Bindegewebe:				
Rind II	20 g	136,5	136,0	134,5
» III	50 g	106,0	109,6	108,0
» IV	50 g	114,4	116,2	110,8
Mittelwert in % (aus III u. IV)		110,2	112,9	109,3
Gewichtsvermehrung in %		+ 10,2	+ 12,9	+ 9,4

Aus den Zahlen folgt wieder die stärkere Gewichtsabnahme der Lende beim Kochen gegenüber dem Hautmuskel und in sehr schlagender Weise eine Wasseraufnahme durch gekochtes Bindegewebe.

III. Versuche über die Volumen- und Dimensionsänderungen gekochten Fleisches.

a) Versuche an Fleisch, das die Totenstarre durchgemacht hat.

Die Methodik der Versuche bestand in möglichst genauem Messen und Berechnen von Fleischstückchen, die etwa 4 cm lang und 1—2½ cm breit und dick waren. Ganz genaue Resultate waren so nicht zu erlangen, zur Orientierung reichen aber die Ergebnisse.

Volumen- und Dimensionsbestimmungen beim Kochen des abgelagerten Rindfleisches.

a. Lende:			b. Hautmuskel:		
Maße in cm	1. Probe	2. Probe	Maße in cm	1. Probe	2. Probe
			roh		
Länge	4,0	1,2	Länge	4,0	2,9
Durchmesser	1,4	2,6	Breite	2,5	4,8
Umfang	4,6	10,0	Dicke	0,7	0,7
Volumen	7,0	7,4	Volumen	7,6	11,4
		5 Min. gekocht			
Länge	3,2	1,0	Länge	2,5	2,2
Durchmesser	1,2	2,3	Breite	2,5	3,6
Umfang	4,4	8,5	Dicke	0,7	0,7
Volumen	5,1	5,5	Volumen	4,6	6,5
		15 Min. gekocht			
Länge	3,1	1,0	Länge	2,4	2,1
Durchmesser	1,1	2,1	Breite	2,4	3,5
Umfang	4,0	8,0	Dicke	0,7	0,7
Volumen	3,7	4,5	Volumen	4,6	6,5
		30 Min. gekocht			
Länge	3,0	1,0	Länge	2,3	2,1
Durchmesser	1,0	2,0	Breite	2,3	3,5
Umfang	3,8	7,7	Dicke	0,7	0,7
Volumen	3,5	4,0	Volumen	4,5	6,1

a) Lende.			b) Hautmuskel.		
Mafse in cm	1. Probe	2. Probe	Mafse in cm	1. Probe	2. Probe
1 Std. gekocht					
Länge	3,0	1,0	Länge . . .	2,3	2,0
Durchmesser .	1,0	1,9	Breite . . .	2,3	3,5
Umfang . . .	3,8	7,5	Dicke . . .	0,7	0,7
Volumen . . .	3,3	4,0	Volumen . .	4,5	5,9

Bestimmung der prozentualen Mittelwerte des Volumens.

	roh	5 Min. gek.	15 Min. gek.	30 Min. gek.	1 Std. ged.
a. Lende:					
1. Probe	100	72,93	52,91	50,05	47,28
2. Probe	100	74,25	60,75	54,00	54,00
Mittelwert:	100	73,59	56,83	52,03	50,62
b. Hautmuskel:					
1. Probe	100	60,72	60,72	59,40	59,40
2. Probe	100	57,20	57,20	53,68	51,92
Mittelwert:	100	58,96	58,96	56,54	55,66

Hieraus folgt in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Wasserbestimmung: Der Lendenmuskel vermindert sein Volum nach 5 Min. bis auf 73,6 %, nach einer Stunde bis ca. 50,6 %; da er nur um rund 40 % Wasser ausprefst, so müssen sich die festen Teile noch stärker kontrahieren als dem blofsen Wasserverlust entspricht. Der Hautmuskel nimmt an Volumen nur etwa auf 55,7 % ab — sein Wasserverlust beträgt dementsprechend auch nur 34 %.

An der Volumabnahme sind alle Dimensionen beteiligt, ebenso wie die Länge nimmt die Dicke ab, genauere prozentische Abnahmen zu berechnen, lohnt aus den spärlichen Zahlen nicht.

b) Versuche mit Fleisch, das zunächst ganz frisch und dann nach längerem Lagern untersucht wurde.

a. Lende:				b. Hautmuskel:		
Mafse in cm	Länge	Breite	Dicke	Länge	Breite	Dicke
1. 1 Stunde nach Schlachtung des Rindes.						
roh	6,0	3,7	1,5	5,5	3,5	0,9
5 Min. gek. .	3,0	4,0	2,5	4,3	3,2	1,0
15 Min. gek. .	3,0	3,5	2,5	4,3	3,2	1,9

	a) Lende			b) Hautmuskel.		
Maſse in cm	Länge	Breite	Dicke	Länge	Breite	Dicke
2. 7 Stunden nach Schlachtung des Rindes.						
roh	10,0	4,0	1,1	14,0	10,0	0,4
5 Min. gek. .	5,0	4,5	1,6	12,0	9,4	0,5
15 Min. gek. .	4,7	4,0	1,5	11,5	9,0	0,5
3. 30 Stunden nach Schlachtung des Rindes.						
roh	7,5	3,5	1,7	11,0	7,5	0,6
5 Min. gek. .	6,0	3,3	1,7	9,4	5,5	0,6
15 Min. gek. .	5,5	3,0	1,7	9,0	5,2	0,6

Volumen des gekochten Fleisches in % berechnet.

nach	1 Std.	7 Std.	30 Std.	1 Std.	7 Std.	30 Std.
5 Min. gek. .	90,0	81,7	75,4	79,5	69,8	62,6
15 Min. gek. .	78,6	61,7	62,9	79,5	64,8	56,6

Der Versuch zeigt in Übereinstimmung mit dem vorigen, daſs sich Fleisch nach 30stündiger Aufbewahrung in keiner Richtung mehr beim Kochen verdickt, sondern kürzer und dünner wird. Dagegen ergab der Versuch, daſs ganz frisch geschlachtetes Fleisch sich wohl beim Kochen in der Länge sehr stark verkürzt, aber dabei an Dicke zunimmt, so daſs sein Volum sich nicht auf 56—51%, sondern nur auf 78 bis etwa 73% vermindert. Nach 7stündigem Aufbewahren stand das Fleisch in seinen Eigenschaften etwa zwischen dem frischen und dem abgestorbenen in der Mitte.

Diese Resultate stimmen mit denen von Ferrati (Arch. f. Hyg. XIX, 324), daſs das Fleisch nach überstandener Totenstarre einen gröſseren Gewichtsverlust bei Kochen zeigt als vor demselben.

VIII. Zähigkeit geräucherten Fleisches, von Speck und Wurst.

Anhangsweise seien einige Resultate erwähnt, welche die übrigen Befunde vom praktischen Standpunkt ergänzen.

Gunkel, der für Rindslende die Durchschnittszahl 2085, für Hautmuskel 5480 (multipliziert) gefunden hatte, untersuchte auch einige Proben geräucherter Fleischwaren.

Speck A. Derbere, der Haut näher liegende Schicht mit mehr Bindegewebe		Speck B. Zartere tiefe Schicht mit weniger Bindegewebe	
Speck I (geräuchert)	Speck II (nicht geräuchert)	Speck I (geräuchert)	Speck II (nicht geräuchert)
1940	1645	117	93

Durch Kochen veränderte sich die Zahl in

28	—	21	16

Offenbar spielt für die Zähigkeit des rohen Specks und für das Verschwinden dieser Zähigkeit das Bindegewebe die Hauptrolle.

Ferner wurde untersucht (je 40—50 Einzelbestimmung):

Roher käuflicher zartester »Lachsschinken«	Käuflicher gekocht. Schinken	Salamiwurst I alt $^1/_2$ Std.	Salamiwurst II alt 21 Tage
199	404	179	94

Es besitzt also gekochter Schinken etwa die Zähigkeit von Filet, der zarteste rohe Schinken (Lachsschinken) ist aber erheblich zarter — was dem subjektiven Eindruck und der Anschauung der diätetisch verordnenden Ärzte entspricht.

IX. Einige Untersuchungen über die Zähigkeit der anderen efsbaren Organe unserer Schlachttiere mit Rücksicht auf die Frage der Krankenkost und zur Prüfung meiner Anschauungen über die Bedeutung des Bindegewebes.

Als Ergänzung zu den Versuchen von Muskeln liefs ich vom ärztlichen Standpunkte aus einige Untersuchungen über die Zähigkeit der am häufigsten zur Speise benutzten inneren Organe der Tiere vornehmen. Herr Dr. Rothschild, der sie ausführte, fand bald, dafs es für diese Versuche bequemer sei, möglichst quadratische Säulen von 1 cm Querschnitt herzustellen, die man aufsen bis auf die Bifsstelle mit schmalem Leinenband umwickelte, um zu verhüten, dafs die Blöcke mehr zerquetscht als zerbissen würden.

Geprüft ist jedes Organ nur von einem Tier, alle Organe wurden vom Rind, Kalb und Schwein in Untersuchung genommen.

Alle mitgeteilten Zahlen sind Mittel aus mindestens acht Einzeldurchbeifsungen. Ich verkenne nicht, dafs Vermehrung der Untersuchungen durch Ausdehnung derselben auf mehr Tiere den Wert der Zahlen erhöht hätte, aber zu einer Orientierung über das Gebiet reichen dieselben.

Es schien am kürzesten, in eine Tabelle alle Ergebnisse über Leber, Milz, Thymus und Gehirn aufzunehmen. Die Zahlen, die wir an der Lunge ermittelten, sind als ziemlich wertlos weggelassen, da die Lunge frisch sehr luftreich, gekocht dagegen mehr oder weniger luftfrei ist.

	Leber			Milz			Niere			Thymus			Hirn		
	Roh	1 Std. gekocht	2 Std. gekocht	Roh	1 Std. gekocht	2 Std. gekocht	Roh	1 Std. gekocht	2 Std. gekocht	Roh	1 Std. gekocht	2 Std. gekocht	Roh	1 Std. gekocht	2 Std. gekocht
Rind . .	754	260	230	890	520	470	1455	615	500	2475	1600	780	210	70	50
Kalb . .	825	240	180	1305	535	130	1030	255	220	890	370	260	180	60	50
Schwein	2330	450	385	735	235	170	580	330	160	—	—	—	150	55	—

Aus den Zahlen leitet sich ab (wobei natürlich dahingestellt bleibt, wie weit individuelle Besonderheiten das Resultat beeinflussen):

1. Rohe Kalbsleber ist etwas zäher als rohe Rindsleber; gekocht wird sie sehr zart, noch etwas zarter wie Rindsleber. Es erklärt sich dies wohl durch den relativ etwas gröfseren Gehalt der Kalbsleber an Bindegewebe, das beim Kochen zum teil zu Leim wird und somit für die Festigkeit verschwindet. Trefflich pafst dazu die sehr grofse Zähigkeit der bekanntlich enorm bindegewebereichen rohen Schweinsleber, welche durch Kochen um $^5/_6$ ihrer Zähigkeit verliert. Trotzdem bleibt sie doppelt so zäh als die Kalbsleber, was sich wohl ungezwungen so erklärt, dafs die Leber neben kollagenem auch elastisches Gewebe enthält, das nicht durch Kochen erweicht.

2. Die Kalbsmilz ist roh viel zäher als die Rindsmilz gefunden — wahrscheinlich ist sie reicher an Bindegewebe. Sehr überrascht waren wir von dem enormen Rückgang dieser Zähigkeit durch 2stündiges Kochen, was wohl beweist, dafs namentlich leicht zu Leim verwandelbares kollagenes Gewebe an der gröfseren Zähigkeit der Kalbsmilz schuld ist.

3. Bei der Niere wurde ermittelt, dafs die Substantia corticalis der Rindsniere roh fast nur halb so zäh ist wie die Substantia medullaris, 950 gegen 1850. Gekocht verschwindet der Unterschied. Es liegt nahe, den derberen Gefäfsen, dem Bindegewebe der gröfseren Sammelröhren u. s. f., die Ursache davon zuzuschreiben.

4. Die grofse Zähigkeit des Rindsthymus erklärt sich sehr einfach daraus, dafs auch bei dem jungen Rind die Thymusendrüse nur noch sehr wenig Drüsensubstanz, aber sehr viel Bindegewebe enthält. Die starke Abnahme der Zähigkeit bei langem Kochen spricht dafür.

5. Das Hirn ist konkurrenzlos das zarteste Organ (es wurden Würfel aus der weifsen Substanz untersucht). Nach 2stündigem Kochen drang die Schneide des Beifsapparates ohne Belastung durch.

Nicht ohne Interesse waren auch einige Versuche über Herz und Zunge.

	Herz			Zunge		
	roh	1 Stunde gekocht	2 Stunden gekocht	roh	1 Stunde gekocht	2 Stunden gekocht
Rind . . .	2440	2370	2060	4190	2155	2110
Kalb . . .	1150	1110	910	4170	3030	2785
Schwein . .	890	890	750	4100	2475	2740

Betrachten wir zunächst das Herz, so fällt auf, dafs nach 1 Stunde eine kaum merkliche nach 2 Stunden nur eine geringe Festigkeitsabnahme durch Kochen erreicht ist.

Es entspricht dies etwa dem Verhalten des bindegewebearmen Lendenmuskels und pafst recht gut in die oben niedergelegten Betrachtungen und Berechnungen.

Die absoluten Zahlen für das Rindsherz und den Rindslendenmuskel stimmen auch untereinander, auffallend niedrig ist aber der Wert für das rohe Kalbs- und Schweinsherz. Die oben niedergelegten Werte für Kalbslende betragen rund 2000, für Schweinslende 1640.

Nach anderer Richtung überraschen die Resultate an der Zunge.

Die rohe Zunge von Rind, Kalb und Schwein gibt hohe Resultate, fast doppelt so hohe wie Filet, etwa $^2/_3$ so hohe wie der Hautmuskel; durchs Kochen nimmt die Zähigkeit um 30 bis 50% ab, ohne aber unter die Zähigkeit des Filets zu sinken. Nun haben wir alle speziell von Zunge den Eindruck, als ob das Fleisch ganz besonders zart sei, geneigt, auf der Zunge zu vergehen.

Es stellte sich heraus, dafs in den Versuchen Stücke verwendet werden mufsten, welche das bindegewebereiche Septum linguae enthielten, wenn wir schöne Würfel von 1 ccm erhalten wollten. Hierauf wurde eine grofse Pökelzunge aus dem Laden bezogen und an isolierten Partien der Zunge folgende Werte ermittelt:

Gekochte Zunge.

Transversus linguae		Genioglossus	
kalt	heiß	kalt	heiß
505	120	2365	1655

Diese Zahlen weisen für den Genioglossus die normale Zähigkeit eines gekochten Muskels auf, während für den vorderen Teil der Zunge, welcher vorwiegend aus Fasern des Musculus transversus linguae gebildet ist, eine aufserordentliche Zartheit nachgewiesen ist. Dies versteht man aber sehr leicht, wenn

man an das reichliche Gerüste von fetthaltigem Bindegewebe denkt, in das die Muskelfasern eingebettet sind, ein Gerüste, das durch Kochen zu Fett und Leim wird. Interessant ist, dafs diese beiden Substanzen kalt ungeschmolzen noch einen gewissen Zusammenhalt verleihen, während im warmen Zustand nur noch etwa ein $^1/_{15}$—$^1/_{20}$ der normalen Fleischfestigkeit übrig bleibt.

Die Festigkeit (Zähigkeit) vegetabilischer Nahrungsmittel und ihre Veränderung durch das Kochen.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

Nach Versuchen der Herren Dr. P. Gunkel aus Kassel und Dr. J. Wilms aus Mausbach.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

Der in der vorigen Arbeit (S. 137) vielfach benutzte Apparat liefs sich vortrefflich auch dazu verwenden, einmal einige Daten über die Festigkeit resp. Zähigkeit vegetabilischer Nahrungsmittel zu gewinnen. Besonders interessant versprach dabei die Wirkung des Kochens bei den Versuchen hervorzutreten. Irgendwelche Vorarbeiten auf diesem Gebiete sind mir nicht bekannt. In diesen Versuchen war es meist sehr leicht, recht genaue Resultate zu gewinnen, weil die Herstellung von gleichmäfsig geformten Objekten zu den Zerbeifsversuchen sehr leicht war und auch die vegetabilischen Objekte meist homogener in ihrer Struktur sind als die animalischen, wenn wir von Leber, hartem Ei, Käse absehen. Nur die Kohlrabi lieferten, weil sie verschieden holzig waren, verschiedene Werte.

Bei der Weichheit namentlich der gekochten Objekte war es nötig, dem Druckmoment des Hebels (vgl. S. 139) selbst Rechnung zu tragen durch Addition von 10 g zu den Zerbeifsungszahlen, bevor sie mit 5 multipliziert werden.

Gemüse.

	Roh	Gekocht	
Kartoffel alt I	850	95	Die Zahlen sind Mittel von etwa 50 Bestimmungen an vier Knollen, die Extreme schwanken von 550–2000 roh, und 75 bis 100 gekocht.
Kartoffel alt II	940	—	
Kartoffel neu I	560	—	
Kartoffel neu II	510	75	Die Zahlen sind Mittel von sechs Knollen, die je 20 mal untersucht sind, die Extreme roh schwanken zwischen 800—4050, die Mehrzahl der Werte lag zwischen 1000 und 2000. Für die gekocht. Kohlrabi schwanken die Werte von 105—85
Kohlrabi I alt	1420	89	
Kohlrabi II	575	85	
Apfel I	170	unbestimmbar, weil zu weich.	
Apfel II	150		
Apfel III	150		Die Zahlen sind Mittel von etwa 70 Einzelbestimmungen, sie schwanken von 800—2050. Die gekochten Stücke zeigten ganz weich Werte um 200, die etwas derberen um 100.
Gelbe Rübe jung	1900	100	
Gelbe Rübe alt	1780		
Rinde einer älteren Rübe	855	85	
	870		
Weifsbrot ohne Rinde	135		
Schwarzbrot ohne Rinde	120		
Pumpernickel	515		

Nicht recht in die Tabelle passen die Versuche mit grünen Erbsen, weil wir nur einzelne Körner, nicht 1 cm dicke Zylinder zerbeifsen konnten; hier wurden für das Moment des Hebels nur 5 g addiert.

	1/4 Stunde gekocht	1 Stunde gekocht in dest. Wasser	1 Stunde gekocht in Brunnenwasser
Erbsen roh	220	39	65

Die Zahlen zeigen den enormen Einflufs des Kochens auf die Zähigkeit vegetabilischer Nahrung; dieselbe verliert durch Kochen stets $^5/_6$—$^9/_{10}$ der früheren Festigkeit. Dadurch wird natürlich die Zerkleinerung der vegetabilischen Speisen aufserordentlich erleichtert, und welche Bedeutung die Zerkleinerung für die Verdaulichkeit hat, ist ja in den von mir mit Herrn M. Götz und

F. Meyer angestellten Versuchen ganz auffallend zutage getreten (vgl. dieses Archiv, XLIII, 123).

Vegetabilien sind roh wie gekocht fast durchweg zarter wie die eigentliche Fleischnahrung, die zartesten gekochten Tierorgane (Thymus) erreichten nicht ganz die gekochten Vegetabilien und übertreffen sie nur ganz ausnahmsweise (Hirn).

Im allgemeinen empfinden wir Nahrungsmittel von 1 cm Dicke als sehr weiche, wenn 100 g zum Zerbeifsen ausreichen, als weich bis etwa 200—400, als fest aber sehr leicht zerbeifsbar bis 1000 g, als gut aber mit etwas Anstrengung zerbeisbar bis 2000, etwa von 4000 g an stöfst die einseitige Zerbeifsbarkeit auf ernstliche Schwierigkeiten.

Experimentelle Untersuchungen über die Empfänglichkeit und Immunisierung der Kaltblüter gegen Pest.

Von

Prof. **Y. Fukuhara**,

Abteilungsvorsteher im Pathologischen Institut der medizinischen Akademie zu Osaka.

(Aus dem amtlichen Bakteriolog. Institut in Osaka. Direktor: Prof. A. Sata.)

Seit 10 Jahren sind die Pestbazillen Gegenstand mehrfacher Untersuchungen gewesen, jedoch die Empfänglichkeit der Kaltblüter für die betreffenden Mikroben und zwar die pathologisch-anatomischen Veränderungen der infizierten Kaltblüter nur wenig studiert worden.

Albrecht und Gohn versuchten bei Schlangen, Eidechsen und Fröschen die Infizierbarkeit per os, subkutan und intrathorakal, jedoch ohne Erfolg. Nutall ([1]) fand in seinen Untersuchungen über die Empfänglichkeit verschiedener Tiere für Pest, dafs eine der versuchten Kreuzottern (Pelius borus) bei 26 bis 28° C nach 43 Stunden an Pest starb, während 2 andere derselben bei 14° C noch 3 Monate lang nach der Impfung am Leben blieben. Was die Frösche (Rana temporaria) betrifft, fand er, dafs 2, die bei 20° C gehalten und mit grofsen Milzstücken an Pest gefallener Tiere geimpft wurden, sich als immun erwiesen, indem sie über 3 Wochen lang lebten.

Devell ([2]) zieht dagegen aus seinen Beobachtungen folgende Schlüsse:

1. Die Frösche (Rana temporaria) sind sowohl im Winter- als auch im Sommerzustande für Infektion mit Bubonenpest empfänglich.
2. Die Infektion läfst sich durch Einführung von virulenten Pestkulturen oder von Organteilen (resp. Blut) an Pest gefallener Tiere in den Lymphsack der Frösche bewerkstelligen.
3. Spontane Infektion der Frösche bei vorhandenen Hautwunden erscheint nicht ausgeschlossen.
4. Nach Infektion mit Pestbazillen von konstanter Virulenz für weifse Mäuse (tot in 2 bis $2\frac{1}{2}$ Tagen) gehen die Frösche am 13. bis 19. Tage an Pest ein. Nach einmaliger Passage durch den Froschkörper töten die Pestbazillen Frösche in 12 bis 14 Tagen, nach einer zweiten Passage verkürzt sich der Termin bis auf 7 bis 8 Tage, womit jedoch noch keine konstante Virulenz für Frösche erreicht zu sein scheint; wenigstens haben wir bei einer ferneren Passage der Pestbazillen durch den Froschkörper eine weitere Verkürzung des Todestermins bis auf 5 Tage konstatieren können.

Was die Empfänglichkeit der anderen Kaltblüter für Pest anbelangt, kann man leider nirgends eine Arbeit finden. Was die pathologische Anatomie resp. pathologische Histologie bei den Pesttieren betrifft, so verdanken wir die genauen und exakten Untersuchungen von Babes (3), Houl (4), Stricht (5), Lustig-Zardo (6) und Sata (7.8), meinem hochverehrten Direktor der medizinischen Akademie zu Osaka und des pathologischen Institutes. Aber alle diese Arbeiten sind natürlich auf die Warmblüter beschränkt.

Um daher die Infektionsverhältnisse bei einigen Kaltblütern und die pathologischen Veränderungen derselben zu studieren, sowie den diesbezüglichen Unterschied zwischen den Warmblütern und Kaltblütern festzustellen, stellte ich folgende Versuche an.

Als Untersuchungsmaterial wurden Frösche, Fische, Tritonen (kleine Salamander in Japan), Schildkröten, Schlangen und Regenwürmer benutzt, indessen beschränkte sich die Untersuchung

bei Fischen nur auf Süfswasserfische. Es wurden im ganzen 50 Frösche, 20 Fische, 25 Schildkröten, 30 Tritonen, 3 Schlangen und 45 Regenwürmer verwendet.

Die Pestkultur, welche ich verwendete, erhielt ich von Herrn Dr. Onawa, Assistent am Institut, der sie im Juli dieses Jahres von einem Pestkranken in Osaka gezüchtet hätte; die Kultur tötete Mäuse mit $^{1}/_{1000}$ Öse in 2 bis 5 Tagen.

I. Infektionsversuche an Süfswasserfischen.

Als Versuchstier wählte ich Karpfen und Goldfische. Karausche konnte ich nicht anwenden; sie vertragen die Gefangenschaft im stehenden Wasser (besonders im Sommer) nicht. Neun Karpfen (Cyprinus carpio, L.), welche kurz vor Anfang des Versuches gefangen waren, wurden in einen grofsen Glaszylinder gebracht, der mit Leitungswasser bis zu einem Drittel gefüllt worden ist. Die Apparate wurden mittels Drahtnetz und Watte verschlossen.

Bei der Zimmertemperatur von 25 bis 30° C wurden ganze Apparate aufgestellt. Es wurde den Karpfen Pestagarkultur teils intraperitoneal, teils subkutan (oder besser intramuskulär) eingespritzt. Die Agarkultur wurde mit gewissen Mengen physiologischer Kochsalzlösung fein verrieben und die dadurch hergestelle Emulsion wurde angewendet.

Nachdem die Tiere eingegangen bzw. getötet waren, wurden von der Impfstelle sowie von den inneren Organen sofort Ausstrichpräparate angefertigt und Kultivierung ausgeführt. Die Fixierung der Organstückchen wurde in Formol und die Färbung mit Hämatoxylin-Eosin und Karboltionin auch nach Romanowsky vorgenommen. Diese Untersuchungsmethoden wurden an allen anderen Versuchstieren auch angewandt.

Tabelle I.

Beginn des Versuches am 14. VIII. 1906.

Wassertemperatur am 14. VIII.: 24°; am 23. VIII.: 21,3°.

Ergebnis:

Nr.	Gattung	Körpergewicht g	Art und Menge des Impfmaterials	Stelle der Impfung	Datum der Impfung	Datum des Todes	Dauer der Krankheit
1	Cyprinus carpio	20	Agarkultur $^1/_5$ Öse	subkutan	14. VIII.	23.VIII.	9
2	do.	20	$^1/_5$ »	periton.	»	20.VIII.[1])	6
3	do.	20	$^1/_{10}$ »	subkutan	»	17.VIII.	3
4	do.	20	$^1/_{10}$ »	periton.	»	18.VIII.	1
5	do.	20	$^1/_{20}$ »	subkutan	»	23.VIII.	9
6	do.	20	$^1/_{20}$ »	periton.	»	21.VIII.	7
7	do.	22	$^1/_{40}$ »	do.	»	Lebend bleiben.	
8	do.	24	$^1/_{40}$ »	subkutan	»	25.VIII.[1])	11
9	do.	20	$^1/_5$ »	do.	»	Lebend bleiben.	
	Maus	12	$^1/_{1000}$ »	periton.	»	16.VIII.	—

Sektionsbefunde der Karpfen.

Nr. 1. An der Impfstelle finden sich keine Veränderungen in der Haut, hingegen Hämorragien im Muskelgewebe. Flüssiges Blut im Herzen. Leber grauweifs, Nieren graurot, Milz vergröfsert.

Ausstrichpräparate. Herzblut: mehrere, ungleichmäfsig gestaltete Bazillen. Hämorragische Stelle in Muskel: mehrere kurzstäbchenförmige oder spitzige ovale Bazillen. Keine Bazillen in der Leber, Kiemen und Nieren.

Schnittpräparate. Impfstelle: das Muskel- und Unterhautgewebe sind dicht oder locker mit Erythrozyten nebst spärlichen Leukozyten durchsetzt. In der Umgebung dieses hämorrhagischen Herdes sind Blutgefäfs stark injiziert und die Muskelfasern haben ihre Querstreifung verloren. Im Unterhautgewebe sowie nekrotisierten Muskelgewebe finden sind zerstreut, bipolar gefärbte Bazillen und spärliche nach Gram färbbare Bazillen. Spärliche Bakterien im intravaskulären Blut. Die meisten Mikroorganismen zeigen eine kurze Stäbchenform mit abgerundeten Enden. Milz: spärlichen Bakterien ohne besondere gewebliche Veränderungen. Leber: ausgedehnte Trübung ohne Bazillen. Nieren: leichte parenchymatöse Degeneration hauptsächlich in den gewundenen Harnkanälchen, Gefäfse erweitert und gefüllt. Rundzelleninfiltration ohne Bazillen in der Umgebung des Glomeruli. Kiemen: Keine Veränderung. Keine Bazillen. Herz: Muskelfasern nicht verändert.

1) Getötet.

Nr. 2. 6 Tage nach Impfung getötet. Bauchhöhle enthält geringe Mengen von Flüssigkeit; sonst makroskopische Befunde aller Organe wie bei Nr. 1.

Ausstrichpräparate. Einige Bazillen im Bauchhöhlenexsudat, aber keine im Herzblut und in der Leber. Spärliche unregelmäfsig gestaltete Stäbchen in der Pulpa der Milz.

Schnittpräparate. Milz: keine nennenswerten Veränderungen des Gewebes. Sehr spärliche Bazillen insofern als man in einem Präparate kaum einige Bazillen finden kann. Leber: wie bei 1. Niere: Leichtgradige Trübung der Rindensubstanz, aber keine Bazillen. Kiemen: wie bei 1. Herz: leichtgradige Verfettung. Keine Bazillen. Im Herzblut findet man durch das Kulturversuchen gewisse Menge Bazillen.

Nr. 3. Unterhautgewebe an der Impfstelle zeigt Hämorrhagien. Flüssiges Blut im Herzen. Milz etwas angeschwollen, Leber hyperämisch. Beide Nieren hyperämisch.

Ausstrichpräparate. Zahlreiche ovale auch kurze Bazillen im Muskelgewebe an der Impfstelle, einige Bazillen darunter zeigen Involutionsform. Keine Bazillen in allen Organen.

Schnittpräparate. Impfstelle: leichtgradige Nekrotisierung des Haut- und Muskelgewebes. Zahlreiche Pestbazillen im genannten Herde, besonders reichlich im intermuskulären Bindgewebe. Milz: keine Bazillen und keine nennenswerten Veränderungen. Leber: leichtgradige Trübung nebst fettiger Degeneration, ohne Bazillen. Niere: hochgradige Trübung und Verfettung, Hyperämie und Hämorrhagie an einigen Stellen. Keine Bazillen. Kiemen: leichte Hyperämie. Keine Bazillen in den Alveolen. Herz: leichtgradige Verfettung. Keine Bazillen im Blute.

Nr. 4. Herz gefüllt. Milz etwas angeschwollen. Beide Nieren hyperämisch.

Ausstrichpräparate. Keine Bazillen im Herzblut, Milz, Leber und Niere, aber reichlich in der Bauchhöhleflüssigkeit, welche basophile Leukozyten enthalten. Die letztgenannten Zellen sind mit den gut tingierbaren Bazillen überladen.

Schnittpräparate. Milz: wie bei Nr. 3. Leber: leichtgradige Trübung und Hyperämie, keine Bazillen. Niere: wie Leber. Kiemen: wie bei Nr. 3. Herz: keine besondere Veränderung und keine Bazillen.

Nr. 5. An der Impfstelle findet man keine sichtbaren Veränderungen. Herz enthält flüssiges Blut. Milz keine Veränderung, Leber gelblich verfärbt, Nieren hellrot.

Ausstrichpräparate. Keine Bazillen im Herzblut, Milz, Leber und Nieren.

Schnittpräparate. Impfstelle: spärliche Anzahl der involutierten Bazillen. Milz: keine Bazillen und keine nennenswerten Veränderungen. Leber: Gefäfs injiziert ohne Bazillen. Niere: ziemlich deutliche Trübung und und fettige Degeneration der gewundenen Harnkanälchen nebst der Erweiterung der Kapillaren. Keine Bazillen. Kiemen: keine besonderen Veränderungen und keine Bazillen.

Nr. 6. Wie bei Nr. 4.

Nr. 8. Keine sichtbare Veränderung und spärliche Bazillen an der Impfstelle. Keine Veränderung und keine Bazillen in allen Organen, doch wurde aus der Impfstelle die Kultur angestellt und 2 Ratten geimpft, welche dann an Pest erlegen sind.

Resultate:

Die Krankheitsdauer der Fische schwankt je nach der Art der Impfung und der Menge von Bazillen zwischen 18 Stunden bis 10 Tagen und manchmal darüber. Bei Nr. 9 wurde die eingespritzte Bakterienschwemmung durch die Muskelkontraktion wieder teilweise ausgepreſst und infolgedessen blieb das Tier am Leben.

Es wurden die folgenden Veränderungen an den genannten 7 Fischen festgestellt, von denen 2 aber getötet wurden:

1. Leichte Nekrose und Hämorrhagie an der Impfstelle.
2. Auftreten einer spärlichen Anzahl der Bazillen im Blut.
3. Fettdegeneration bzw. Trübung der Herzmuskeln.
4. Parenchymatöse Degeneration der Leber und Niere, keine Ansiedelung des Bazillus.
5. Nur selten beobachtete Hämorrhagien der Niere.
6. Milzschwellung mit den nur zweimal nachgewiesenen spärlichen Bazillen.

II. Infektionsversuche am Frosche.

Wie bei Fischen wurden 10 Frösche und eine Kröte (Nr. 15) mit Pestagarkultur geimpft und bei Zimmertemperatur in einem Zylinder beobachtet, welcher mit niedriger Schlammschicht und Wasser versehen ist. Das Wasser wurde nicht erneuert, denn die Frösche waren schon an einem solchen Zustand gewöhnt. Frosch Nr. 4 wurde am 9. Tage post infectionem getötet.

Mit der aus Nr. 2 Frosch gezüchteten Kultur wurden wieder 2 Frösche (Nr. 11 und Nr. 12) infiziert. Die aus Nr. 11 Frosch isolierte, nämlich zweimal den Froschkörper passierte Kultur wurde auch wieder an 2 Frösche (Nr. 13 und 14) geimpft.

Versuchsergebnisse sind folgende:

Tabelle II.
Beginn des Versuches am 10. VIII. 1906.
Temperatur der Aufbewahrung: 21—23° C.

Nr.	Gattung	Körpergewicht g	Art und Menge des Impfmaterials	Stelle der Impfung	Datum der Impfung	Datum des Todes	Dauer der Krankheit
1	Rana esculenta	9	Agarkultur 1/4 Öse	periton.	10. VIII.	11.VIII.	12 Stdn.
2	do.	9	1/4 »	dorsaler Lymphsack	»	»	»
3	do.	11	1/10 »	periton.	»	12.VIII.	3 Tage
4	do.	19	1/15 »	dorsaler Lymphsack	»	19.VIII.[1])	9 »
5	do.	12	1/20 »	periton.	»	16.VIII.	6 »
6	do.	11	1/30 »	dorsaler Lymphsack	»	18.VIII.	8 »
8	do.	11	1 »	per os	»	11.VIII.	10 Stdn.
9	do.	12	1/40 »	periton.	»	überlebend.	
10	do.	12	1/40 »	dorsaler Lymphsack	»	»	
11	do.	17	1mal passiert. Kultur 1/2 Öse	periton.	19. VIII.	20.VIII.	12 Stdn.
12	do.	13	ebenso 1/4 »	do.	»	überlebend.	
13	do.	12	2mal passiert. Kultur 1/2 Öse	do.	28. VIII	31.VIII.	3 Tage
14	do.	13	ebenso 1/4 »	do.	»	überlebend.	
15	Bufe vulgaris	130	Agarkultur 4 Ösen	do.	»	»	

Sektionsergebnisse der Frösche.

Nr. 1. Herzblut flüssig. Leber graurot, Milz etwas vergröfsert. Nieren angeschwollen, hellrot. Lungen hyperämisch.

Ausstrichpräparate. Ganz spärliche Anzahl der Bazillen im Herzblut, in der Leber und Nieren. Reichliche Anzahl der bläschenförmigen Bazillen im Bauchhöhlenexsudat.

Schnittpräparate. Milz: keine Veränderungen und keine Bazillen. Leber: Trübung und leichte Hämorrhagien. Niere: hochgradige Trübung und Fettdegeneration der Harnkanälchen. Lunge: etwas pneumonisch infiltriert. Herz: Muskel zeigt sich leicht getrübt, aber keine Verfettung. Leber, Nieren und Lungen lassen sich keine Bazillen nachweisen. Kultivirung aus Herzblut positiv.

Nr. 2. Reichliche, blutige Flüssigkeit in dem Lymphsack. Herz enthält dunkelrote Gerinnsel· Milz weich, Leber dunkelrot. Nieren etwas hyperämisch, Lunge auch stark hyperämisch. Darm entzündlich gerötet.

Ausstrichpräparate. Spärliche Bazillen im Herzblutausstrich. In der Lymphsackflüssigkeit finden sich zahlreiche Bazillen und einigen Bazillen-

1) Getötet.

fäden, welche sich stellenweise schwach gefärbt erweisen. Keine Bazillen in der Leber, Milz und Lungen.

Schnittpräparate. Man findet keine Bazillen in der Leber, Milz, Nieren und Lungen. Kultivierung aus Leber positiv auf Pestbazillen. Milz: keinerlei Erscheinungen. Leber: Trübung, leichtgradige Verfettung und kleine Hämorrhagien an einigen Stellen. Niere: wie bei Nr. 1. Lunge: Spärliche Zellen in Alveolarraum. Herz: Trübung.

Nr. 3. Herzblut enthält reichlich Gerinnselmassen. Keinerlei makroskopische Erscheinungen aufser dem Exsudat in Bauchhöhle.

Ausstrichpräparate. Bauchhöhlenexsudat enthält zahlreiche Bazillen. Im Herzblut findet sich nur eine spärliche Anzahl der Bazillen, so dafs man in einem mehrere Präparate kaum finden kann. Sonst keine Mikroorganismen in allen Organen.

Schnittpräparate. Milz und Lungen: keine nennenswerten Veränderungen. Leber und Nieren: hochgradige Trübung.

Kulturell werden die Bazillen aus dem Herzblut gezüchtet, nicht aber aus der Leber und Niere.

Nr. 4. An der Injektionsstelle, sowie an den inneren Organen makroskopisch nichts Besonders.

Ausstrichpräparate. In der Lymphsackflüssigkeit und in dem Herzblut wenige bläschenförmige Bazillen. Keine Bazillen in allen Organen.

Schnittpräparate. Milz: keine nennenswerten Veränderungen. Leber: Trübung und Hämorrhagien. Lunge: wie bei Nr. 3. In allen Organen findet man keine Bazillen, aufser der Leber mit einer Anzahl der Bazillen in den grofsen Blutgefäfsen.

Nr. 5. An der Innenfläche der beiden Oberschenkel an der Haut finden sich kleine Geschwüre, deren Umgebung hyperämisch ist. Herzblut etwas flüssig. Milz etwas angeschwollen. Leber gelblich marmoriert. Nieren intakt. Darm und Lungen hyperämisch. Harnblase erweitert und gefüllt, deren Gefäfse injiziert. In demselben kann man weder mikroskopisch noch kulturell Pestbazillen finden.

Ausstrichpräparate. Bauchhöhleflüssigkeit zeigt zahlreiche Bazillen. Keine Bazillen in allen Organen.

Schnittpräparate. Milz: Kapillaren erweitert. Leber: hochgradige Trübung und Fettdegeneration. Hämorrhagien an einigen Stellen. Niere: Hämorrhagien und Trübung. Lunge: Alveolen mit zellig hämorragischen Exsudat. Herz: Verfettung. In allen Organen kann man keine Bazillen nachweisen. Im Schnitte des ulzerierten Teiles der Schenkel findet man die intramuskuläre Blutung und Nekrose des Muskelgewebes, in welcher sich eine Menge der Fäulnisbakterien zerstreut nachweisen läfst. Kulturell werden die Pestbazillen aus der Muskelsubstanz nicht gewonnen.

Nr. 6. Starke Abmagerung. Lymphsack am Rücken (Impfstelle) zeigt wenige Flüssigkeit. Histologische Befunde an allen Organen wie der obigen Nummer.

Ausstrichpräparate. Lymphsackflüssigkeitsausstrich enthält unregelmäfsig gestaltete Stäbchen, deren einige scheinfädig sind. Herzblut

enthält geringere Anzahl der Bazillen. Alter Organausstrich, es lassen sich keine Bazillen nachweisen.

Schnittpräparate. Alle Befunde wie bei Nr. 5.

Kulturell wurden die Pestbazillen aus dem Herzblut gezüchtet.

Nr. 8. Im unteren Teil der Bauchdecke zeigt sich ca. 1 cm breite subkutane Hämorrhagie. In der Mundhöhle zeigt sich keine sichtbare Veränderung. Magen und Darm stark hyperämisch, hier und da mit dem nadelkopfgrofsen Blutaustritt durchsetzt. Milz angeschwollen. Leber dunkelgrau, Nieren dunkelrot, Harnblase leer. Reichliches, flüssiges Blut im Herzen. Beide Lungen hyperämisch.

Ausstrichpräparate. Im Herzblut-, Leber-, Milzausstrich findet sich geringere Anzahl von Bazillen. Keine Bazillen in den Nieren. Magen- und Darminhalt enthalten zahlreiche, bipolar gefärbte Stäbchen.

Schnittpräparate. Milz zeigt keine besondere Veränderung. Leber: Verfettung und Hämorrhagien Niere: Parenchym erweist sich hochgradig degenerativ verändert; in der Rinde zeigen sich fast sämtliche Harnkanälchenepithelien als kernlose, unregelmäfsige Schollen in den Röhren der Tunica propria. In den Glomeruli sind viele Epithelien abgestossen und in Form scholliger Ablagerungen im Kapselraum deponiert. In der äufseren Zone der Rinde finden sich in der Umgebung zahlreicher Glomeruli Blutaustritte; das Interstitium ist hier von dicht gedrängten Erythrozyten durchsetzt. Selbst in den geraden Harnkanälchen der Marksubstanz ist die Degeneration und Nekrose eine sehr ausgedehnte. Pestbazillen lassen sich mikroskopisch im Nierengewebe nicht auffinden. Lunge: Weder Veränderungen noch Bazillen. In der Magenwand findet man einige Defekte der Schleimhaut, in deren Gebiete keine zirkumskripte Blutung der Submucosa stattfindet. In ihrem Bereiche zeigt die Submucosa leichte Nekrose, aber die Pestbazillen sind nur spärlich zerstreut vorhanden. Bei dem Dünndarm ist die Spitze der Darmzotten nekrotisch, und zwar an einzelnen Stellen das Oberflächenepithel losgestofsen; die an solchen Defekt angrenzende Zone ist von roten Blutkörperchen durchsetzt. Der nekrotische Vorgang in der Submucosa ist nicht deutlich, und Auftreten der Bazillen auch spärlich, so dafs man sie in einem Schnitte kaum nachweisen kann. Herzmuskelgewebe: zeigt tiefgreifende Veränderungen. Die Querstreifung der Muskelfaser fast überall ganz vermischt. Man kann mit Sudan III leichte Fettdegeneration nachweisen. Kultivierung der Pestbazillen aus der Niere positiv.

Nr. 11. Herzinhalt halbflüssig. Milz angeschwollen. Leber grofs, gelbweifs marmoriert. Gallenblase grofs, mit dunkelgrüner Flüssigkeit gefüllt. In der Bauchhöhle weniges Exsudat.

Ausstrichpräparate. Wenige Bazillen in dem Bauchhöhlenexsudat und dem Herzblut. Keine Bazillen in der Milz, Leber und Niere.

Schnittpräparate. Milz: keine besondere Veränderungen. Leber: Trübung und Hämorrhagien. Niere: Hochgradige Trübung und Fettdegeneration. Subkapsuläre Blutung. Lunge: hämorrhagische Pneumonie. Herz: Trübung.

In allen Organen findet man keine Bazillen.

Nr. 13. Die Stichstelle der Spritze an der Bauchdecke zeigt eine subkutane Blutung. Herz enthält flüssiges Blut. Beide Lungen hyperämisch. Reichliche Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Milz angeschwollen. Leber gelblich weifs.

Ausstrichpräparate. Bauchhöhlenflüssigkeit enthält eine sehr spärliche Anzahl der Bazillen. Wenige Bazillen im Herzblut.

Schnittpräparate. Milz: Die Veränderungen sind mikroskopisch auch geringfügig, Blutgehalt im allgemeinen ziemlich gering; Bakterien sind nicht nachweisbar. Leber: Die Kapillarräume sind durchgehends ziemlich weit, enthalten strotzend rote Blutkörperchen. Leberzellen zeigen im allgemeinen leichtgradige Trübung und Fettdegeneration. Keine Bazillen in der Leber. Ein überraschendes Bild zeigt die Niere; das Rindenparenchym hochgradig verändert; die Kerne der Epithelien der Tubuli contorti sind auf weite Strecken vermischt oder gar nicht mehr nachweisbar. An solchen Stellen kann man weder durch die Weigertsche Färbung noch nach Romanowsky nichts nachweisen. In den Glomeruli sind viele Epithelien abgeschuppt, aber noch kernhaltig. Mittels der Sudanfärbung sind alle Nierenzellen verfettet. Lungen: etwas pneumonisch. Herz: Fettdegeneration.

Resultat.

Es wurden im ganzen an 14 Fröschen und einer Kröte Versuche vorgenommen. Die Kröte blieb am Leben, wenn auch die grofse Menge der Bazillen injiziert wurde. Zwei Frösche (Nr. 9 und 10), welchen $^1/_{40}$ Ose Agarkultur injiziert war, blieben gesund, während eine mit $^1/_{1000}$ Öse Bazillen intraperitoneal injizierte Maus nach 55 Stunden zugrunde ging.

Ein Frosch, der mit aus Nr. 2 Frosch gezüchteter Kultur ($^1/_4$ Öse) infiziert wurde, blieb überlebend, während ein anderer Frosch (Nr. 11) durch $^1/_2$ Öse derselben Kultur getötet wurde. Man kann daran denken, dafs sich die den Froschkörper einmal passierten Bazillen ihre Virulenz so steigern, wie es Nutall bestätigt hatte.

Es ist auch denkbar, dafs die Bazillen durch die Passage des Froschkörpers merkwürdigerweise eine Abschwächung ihrer Virulenz zeigen, indem die den Froschkörper zweimal passierten Bazillen ebenso nicht giftig waren (Nr. 14 Frosch), wie die Stammkultur.

Was die Reaktion des Organismus anbetrifft, ist sie etwa entsprechend der Menge der Bazillen. Die Dauer der Krankheit schwankt zwischen 12 Stunden bis 9 Tagen. Die Verabreichung der Bazillen wurde meist intraperitoneal oder subkutan ausgeführt, während in einem Fall (Nr. 8) die Bazillen direkt in den Schlund dem Tiere eingebracht wurden. Pathologischanatomische Veränderungen sind auch quantitativ verschiedene, aber qualitativ analoge. Die wichtigen Befunde sind folgende:

1. Subkutane Blutung an der Impfstelle.
2. Milzanschwellung mit keinen Bazillen.
3. Hochgradige parenchymatöse Degeneration und Hämorrhagien der Leber und Niere; seltenes Auftreten spärlicher Bazillen.
4. Hämorrhagische Erosion im Darm und Magen bei der Infektion per os, und das Vorkommen der Bazillen im betreffenden Herde.
5. Pneumonische, auch selten hämorrhagische Infiltration der Lungen mit keinen Bazillen.
6. Trübung und Fettdegeneration des Herzmuskels und Auftreten der Bazillen im Herzblut.

Dafs eine hämorrhagische Erosion im Magen und Darm nach vorausgegangener Schädigung inneren Schleimschichten durch Pestbazillen entstehen sollte, ist klar. Es ist vielleicht auch denkbar, dafs die Bazillenverschleppung an anderen Organen vom Darm aus erfolgt sei.

III. Infektionsversuche an den Tritonen.

Alle Versuchstiere wurden bei Zimmertemperatur gehalten, und zwar in hohen Glasgefäfsen, deren Boden mit einer ganz niedrigen Schicht Wassers bedeckt war. Ich impfte diese Tiere immer peritoneal, weil die subkutane Impfung sich als unpraktisch zeigte.

Tabelle III.
Beginn des Versuches am 6. VIII. 1906.
Wassertemperatur am 6. VIII.: 21° C; am 6. IX.: 27° C.

Nr.	Gattung	Körpergewicht g	Art und Menge des Impfmaterials	Stelle der Impfung	Datum der Impfung	Datum des Todes	Dauer der Krankheit
1	Triton pyrohog.	4	3 Tage alt. Agarkultur 1/4 Öse	periton.	6. VIII.	7. VIII	13 Stdn.
2	do.	4	do.	»	»	8. VIII.	2 Tage
3	do.	4	1/5 Öse	»	»	11. VIII.	5 »
4	do.	5	1/5 »	»	»	10. VIII.	4 »
5	do.	4	1/10 »	»	»	14. VIII.	8 »
6	do.	4,5	1/15 »	»	»	19. VIII.	13 »
7	do.	4	1/30 »	»	»	überlebend.	
8	do.	4	Agarkultur aus Nr. 1, Frosch, 1/5 Öse	»	27. VIII	30. VIII.	3 Tage
9	do.	4	Agarkultur aus Nr. 2, Triton, 1/5 Öse	»	»	6. IX.	10 »

Ich lasse die Sektionsprotokolle und die Befunde mikroskopischer Untersuchung hier folgen:

Nr. 1. In der Injektionsstelle der Bauchdecke findet man den punktförmigen, dunkelbraunen Fleck. Bauchhöhle enthält kleine Menge des Exsudats. Milz angeschwollen und hyperämisch. Leber vergröfsert, rot marmoriert. Niere dunkelrot, Lunge hyperämisch.

Ausstrichpräparate. Durch Abstrichpräparate aus der Bauchhöhle lassen sich reichliche Bazillen nachweisen. Herzblut enthält wenige Bazillen, Milz auch wenige. Agarkultur aus dem Herzen und der Milz wiesen die Pestbazillen auf. Keine Bazillen im Leber- und Nierenausstrich.

Schnittpräparate. In der Leber und dem Herzen kann man keine besonderen Veränderungen nachweisen. Nieren etwas getrübt, aber keine Bazillen. In der Milz läfst sich eine spärliche Anzahl der Bazillen nachweisen, aber keine nennenswerte Erscheinung.

Nr. 2. Sektionsergebnis wie bei Nr. 1, aufser dem Auftreten der Trypanosomen im Blute und keiner Verschleppung der Bazillen in der Milz.

Nr. 3. In der Bauchdecke und im oberen Teil der Brustdecke findet man einige, zerstreute subkutane Hämorrhagien.

Ausstrichpräparate. Bauchhöhlenflüssigkeit zeigen massenhaft die Bakterienhaufen. Der Ausstrich aller inneren Organe läfst keine Bazillen nachweisen.

Schnittpräparate. In der Milz läfst sich sehr bedeutende Vermehrung der Pulpazellen erkennen. Die Gefäfsräume sind kaum erkennbar. Keine Bakterien in der Milz. In der Leber lassen sich keine sichtbaren Veränderungen

auffinden, auch keine Bazillen nachweisen. In der Niere bemerkt man Trübung. Herzmuskel auch getrübt. Agarstrichkulturen aus Blut, Leber, Milz und Nieren ergaben keine Pestbazillen.

Nr. 4. Keine freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Alle Organe ohne nennenswerten pathologischen Befund. In den etwas fadenziehenden Auflagerungen an den Bauchorganen findet man reichliche Menge von Bazillen. In den Ausstrichpräparaten aus allen Organen und dem Herzblut lassen sich keine Bazillen erkennen.

Schnittpräparate. Bakterien können in der Milz nicht gefunden werden. Die Leber zeigt eine leichte Degeneration. Fettvakuolen sind in den peripheren Azinuspartien nur ganz spärlich nachweisbar. Alle Kapillarräume sind erweitert. Bakterien können auch in der Leber mikroskopisch nicht nachgewiesen werden. Etwas weniger, wenn auch noch recht nachweisbar sind die parenchymatösen Degenerationen in den Nieren. Die zwischen den Markstrahlen liegenden, geraden gröfseren arteriellen und venösen Gefäfse sind ebenfalls stark gefüllt. Keine Bakterien auffindbar. Querstreifung des Herzmuskels ist nur mangelhaft darstellbar, die Kerne aber gut gefärbt. Keine Bazillen im Herzblut.

Nr. 5. In der Bauchhöhle wenige Flüssigkeit, wenige Bakterien nach weisbar. Herzblut flüssig, keine Bazillen. Milz angeschwollen. Leber dunkelrot. Nieren auch angeschwollen.

In den Ausstrichpräparaten aller Organe sind keine Bakterien nachweisbar.

Schnittpräparate. In der Niere läfst sich starke Blutfüllung der Gefäfse und hochgradige Trübung erkennen. In der Leber zeigt sich mikroskopisch nichts Besonderes. In der Milz sind weder die pathologischen Veränderungen noch die Bazillen nachweisbar. Am Myokard findet man die leichte Trübung des Muskelgewebes; Bazillen sind nicht erkennbar.

Nr. 6 Keine freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Milz vergröfsert. Leber zeigt hier und da einige subseröse, diffuse rote Flecke. Nieren etwas angeschwollen.

Schnittpräparate. Die Milz zeigt keine besonderen Veränderungen. In der Leber sind die Zellformen und die Färbbarkeit ihrer Kerne sehr gut erhalten. Die subkapsulären Gefäfse sind sehr stark mit roten Blutkörperchen gefüllt, vereinzelte kleine Blutaustritte liegen im Interstitium. In den Nieren weisen sich leichtgradige, parenchymatöse degenerative Veränderungen auf. Herzmuskel leicht verfettet. Bakterien lassen sich in allen Organen nicht nachweisen, kulturell auch negativ.

Nr. 8. In der Bauchhöhle zeigt sich eine geringere Flüssigkeitsansammlung. Bakterien befinden sich spärlich darin.

Im Herzblutausstrich lassen sich spärlich Bakterien auffinden.

Mikroskopische Befunde der Organe wie bei Nr. 6.

Nr. 9. Bauchhöhle enthält wenige Flüssigkeit. Herzblut halbflüssig. Milz vergröfsert. Leber etwas gelblich. Beide Nieren etwas hyperämisch.

Im Ausstrichpräparat der Bauchhöhlenflüfsigkeit läfst sich eine sehr spärliche Anzahl Bakterien nachweisen.

Die Bakterienfunde sowie Gewerbsveränderungen eben so wie bei Nr. 8.

Resultate.

Alle Versuchstiere, ausgenommen Nr. 7, sind im Laufe von 12 Stunden bis 13 Tagen verstorben. Ein dreifsigstel Öse der Bazillen konnte nicht den Triton von 4 gr Körpergewicht töten, während ein vierzigstel Öse derselben Bazillenkultur den Frosch von 12 gr Körpergewicht zu töten vermag.

Also ist die Empfänglichkeit der Tritonen im Verhalten des Körpergewichtes etwas schwächer als die des Frosches. Die durch Bakterien und seine Toxine hervorgerufenen Veränderungen sind nicht so auffällig, wie bei den Fröschen. Die wichtigen Befunde sind folgende:

1. Anschwellung der Milz.
2. Spärliches Auftreten des Bazillus im Herzblut und in der Milz.
3. Parenchymatöse Degeneration der Leber und der Niere; aber die Veränderungen sind nicht deutlich wie bei den Fröschen.
4. Hämorrhagien in der Leber.
5. Trübung und leichtgradige Verfettung des Herzmuskels.
6. Die Bakterienverschleppung in die Blutbahn trifft man nur 3 mal (Nr. 1, 8 u. 9), die Anzahl der Bakterien ist natürlich sehr spärlich, so dafs man in allen inneren Organen (ausgenommen einen Fall Nr. 1) weder mikroskopisch noch kulturell die Bakterien auffinden kann.

Ich will hier noch anfügen, dafs ich einer Gekko 1 Öse Agarkultur intraperitoneal eingeimpft hatte und das Tier noch gesund blieb.

IV. Infektionsversuche an den Schildkröten.

Als Versuchstiere benutzte ich 6 »Suppon« (Trionix japonicus), 6 »Kame« (Trionix sp.) und 5 »Tosakame« (Emys tosaensis).

Tabelle IV.

Beginn des Versuches am 17. VIII. 1906.

Wassertemperatur im Aufbewahrungsgefäfs 21—23° C.

Nr.	Gattung	Körpergewicht	Art und Weise des Impfmaterials	Stelle der Impfung	Datum der Impfung	Datum des Todes
1	Trionix sp.	100	Agarkultur[1] 1 Öse	subkutan	17. VIII.	
2	»	100	1 »	periton.	»	
3	»	80	1/2 »	subkutan	»	22. VIII.
4	»	85	1/2 »	periton.	»	
5	»	75	1/4 »	subkutan	»	22. VIII.
6	»	75	1/4 »	periton.	»	
7	Trionix japon.	177	1 »	subkutan	»	
8	»	120	1 »	periton.	»	
9	»	118	1/2 »	subkutan	»	
10	»	118	1/2 »	periton.	»	
11	»	118	1/4 »	subkutan	»	
12	»	118	1/4 »	periton.	»	
13	Emys tosaensis	6,5	1/4 »	»	»	
14	»	6,5	1/4 »	subk. a. Fufs	»	
15	»	6,5	1/8 »	periton.	»	
16	»	6,5	1/15 »	»	»	
17	»	6,5	1/20 »	»	»	

Nr. 3 und 5 gingen nach 5 Tagen ein, während die andere ganz gesund blieben. Bei der Mikroskopierung und Kultivierung aller Organen sind nur Fäulnisbakterien vorhanden. Deshalb läfst sich aus dem betreffenden Versuche weiter keine Schlufsfolgerung ziehen. An der Injektionsstelle findet man nur lokal eine Menge der fast aufgelösten staubähnlichen Bazillen.

V. Infektionsversuche an den Schlangen.

Drei Schlangen (Elaphis virgatus, Schleg.) wurden verwandt.
Nr. 1 wurde 5 Öse Pestagarkultur intramuskulär injiziert.
Nr. 2 wurde 5 Öse Pestagarkultur in Magenrohr injiziert.

1) 1/1000 derselben Kultur hat die Mäuse nach 2—5 Tagen getötet.

Nr. 3 Ich unternahm, das Tier eine infizierte Maus fressen zu lassen, aber es gelang nicht. Dann wurde ihm wieder ein infizierter Frosch gegeben. Die Schlange verschlang den Frosch, blieb aber gesund.

VI. Versuche zur Infektion bei den besonderen Zuständen.

Ich unternahm auch die Infektion der Kaltblüter in einem dem natürlichen Infektionsmodus nahe liegenden Zustande zu beobachten und benutzte hierzu Frösche, Fische, Tritonen, Regenwürmer und Schildkröten.

Nach den umfangreichen Untersuchungen von Pasteur über die Bedeutung der Regenwürmer für die Verbreitung des Milzbrandes suchten Despeignes und Lortet (9) eben dieselbe Frage bezüglich der Verbreitung von Tuberkelbazillen durch Regenwürmer klarzustellen. Sie fanden, dafs tuberkulöses Material von Regenwürmern ohne Schaden aufgenommen und in ihrem Organismus deponiert werden kann; mit den Fäzes dieser Würmer konnten sie bei Meerschweinchen generalisierte Tuberkulose erzeugen.

Die Pestratten sind dadurch gefährlich, dafs sie mit dem Urin und den Dejektionen massenhaft Pestbazillen ausscheiden, die in allen Räumen deponiert werden können. In den dunkeln feuchten Räumen, worin bei unserem Gebäude, insbesondere in der Küche, verschiedene Regenwürmer vorhanden sind, können sich dann die Pestkeime lange Zeit lebensfähig erhalten und unter Umständen von Regenwürmern aufgenommen werden. Die im Körper der Würmer vorhandenen Pestkeime können nicht nur von Würmern an Würmer übertragen, sondern auch durch die Würmerwanderung wieder auf die Oberfläche des Bodens transportiert werden und die Gelegenheiten geben, zu Menschen übertragen zu werden, welche beim Dienst oft barfufs zur Küche und dergleichen Räumen hineinzutreten gewohnt sind.

Auch die Fische scheinen nach Janson (10) in China in Verdacht gewesen zu sein, zur Verbreitung der Pest beizutragen,

denn das Fangen derselben wurde dort zur Pestzeit untersagt. Aber es lag nahe die Frage aufzuwerfen, ob Fische oder Schildkröten zuweilen auch zu Verbreitern von Pest werden könnten, weil dieselben ein Volksnahrungsmittel darstellen und in mannigfaltigsten Zubereitungen genossen werden.

Ich lasse hier zunächst die eigenen Versuchsergebnisse folgen.

Versuch A.

Vierzig Regenwürmer, welche gewöhnlich kurz vor Anfang des Versuches aus der Küche und dem Keller gefangen waren, wurden in Glaszylinder gebracht, deren Boden mit Schlamm bedeckt ist. Bei Zimmertemperatur (23° bis 25° C am Anfang des Versuches) wurden die Zylinder 2 Tage lang stehen gelassen. Dann wurde die Pestbazillenbouillonkultur auf die Schlammschicht gegossen; nach 2 Tagen wurden alle Regenwürmer in neuen Zylinder gebracht, welcher neuen Schlamm enthält. Die so behandelten Würmer wurden zeitweise herausgenommen, erst mit Sublimatalkohol gewaschen, dann mit sterilem Wasser gespült, darauf der Wurmleib geschnitten und zur mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchung sowie zu Tierversuchen gebracht.

Während der Versuche gingen Würmer zugrunde, deren viele auch mikroskopisch und bakteriologisch untersucht wurden. In den folgenden Tabellen, werden die Untersuchungsergebnisse der getöteten und gestorbenen Würmer angegeben:

Wie aus den Tabellen ersichtlich, gingen 8 Würmer im ganzen zugrunde, aufserdem 32 getötet. Der Schlamm, welcher 2 Tage lang die Würmer behielt, wurde täglich in Bouillon aufgeschwemmt, 5 bis 7 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt und dann Mäusen oder Ratten eingeimpft.

Ich konnte in mit der Bouillonkultur geimpftem Schlamm Pestbakterien 27 Tage lang lebensfähig nachweisen, während sich die Pestbazillen im Leib der Würmer 70 Tage noch lebensfähig und virulent für Versuchstiere aufweisen lassen. Es ist wohl denkbar, dafs die Pestbazillen den Darm der Würmer mit den Fäzes zusammen passieren können. Es ist auch möglich, dafs

die Bazillen mit Fäzes und Harn von Pestratten auf die Erde fallen und gewisse Zeit im Darm der Regenwürmer aufbewahrt werden können. Dafs verschiedene Tierarten, insbesondere die Ratten, zu der Verbreitung der Pest beizutragen vermögen, kann nach verschiedenen Mitteilungen unzweifelhaft sein. Noch nicht völlig geklärt scheint dagegen die Frage, ob der Pestkeim von gewissen Tieren länger in lebensfähigem Zustande beherbergt wird, als vom Menschen. Einige Autoren sind der Meinung, dafs die Pest in Ratten von gewisser Zeitdauer latent verlaufen könne. Aber es ist noch nicht mit Sicherheit bestätigt worden. Die Tatsache, dafs die Pest in manchen Gegenden zu bestimmten Jahreszeiten aufhört, sich Monate hindurch in infektionsfähigem Zustande erhält, ist bekannt. Welche Medien es hauptsächlich sind,

Tabelle V.
Beginn des Versuches am 20. VIII. 1906.
Zimmertemperatur: 23—27° C.

Nummer	Zeitdauer (Tage)	Bakterienbefund	Nummer	Zeitdauer (Tage)	Bakterienbefund
1	2	+	21	25	+
2	2	+	22	26	+
3	5	+	23	27	+
4	6	+	24	28	+
5	8	+	25[1]	28	+
6	10	+	26	29	+
7[1]	12	+	27[1]	29	+
8	15	+	28	30	+
9	16	+	29	32	+
10	17	+	30[1]	32	+
11	18	+	31	34	+
12[1]	18	+	32	38	+
13	19	+	33	42	+
14	20	+	34[1]	42	+
15	21	+	35	45	+
16[1]	21	+	36	50	+
17	22	+	37	55	+
18	23	+	38	60	+
19[1]	23	+	39	61	+
20	24	+	40	70	+

1) Spontan gestorben.

die eine Verbreitung der Pestbazillen vermitteln — ob letzteres im Wasser oder im Boden enthalten sei — ist an der Hand der bisher vorhandenen Arbeiten noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden, doch deuten meine Resultate des Regenwürmerversuches darauf hin, dafs die Regenwürmer wohl beim ersten Blick in Betracht kommen würden. Lowson (11) nimmt auf Grund seiner eingehenden Untersuchungen den Standpunkt ein, dafs die Erde in den Pesthäusern gelegentlich infiziert werden könne, dafs man aber für die Annahme einer Verbreitung der Pest durch die Erde bislang keinerlei Grundlage habe. Aber fast alle Epidemiologen stimmen damit überein, dafs die Pest nur dort sich zu verbreiten vermag, wo die menschlichen Wohnungen Stätten arger Schmutzanhäufung sind. Die Regenwürmer kann man immer dort reichlich vorhanden finden, wo feuchter Schmutz angehäuft ist. Es ist wohl daher denkbar, dafs die Regenwürmer im Schmutzstoffe eine Rolle für die langdauernde Aufbewahrung wie Verbreitung des Pestkeimes spielen können. In den spontan gestorbenen Regenwürmern kann man keine nennenswerten Veränderungen nachweisen. Im Blut findet man auch keine Bazillen. Das Sterben ist vielleicht auf einen etwas unpassenden Aufbewahrungszustand zurückzuführen.

Versuch B.

16. VIII. Bei Zimmertemperatur (23 bis 25° C) wurden 4 Goldfische und 2 Karpfen in einen Glaszylinder hineingebracht, welcher mit Wasser halbgefüllt war; und darin wurde dann ca. 20 cc. Pestbouillonkultur eingegossen, nach 2 Stunden die Fische in einen neuen ·Glaszylinder gebracht. Ergebnisse sind folgende:

Nr. 1. Ein kleiner Goldfisch, Körpergewicht 10 gr. 25. VIII. tot.

Sektionsbefund: Herz enthält flüssiges Blut. Dünndarm hyperämisch. Herzblut-, Leber-, und Milzausstrich enthält zahlreiche Bazillen. Nierenausstrich mit wenigen Bazillen.

Schnittpräparate. Milz: ziemlich reichliche Bazillen in den Blutgefäfsen der Pulpasubstanz. Leber: ausgedehnte parenchymatöse Degeneration. In den erweiterten Kapillaren findet man eine geringe Anzahl des typischen Pestbazillus; auch sind sie in grofsen Blutgefäfsen zu finden. Niere: Veränderungen an den Malpighischen Körperchen sind nicht sichtbar; aber

zwischen den Körperchen findet man leichte Infiltration mit Rundzellen. Harnkanälchen zeigen hochgradige Trübung und an manchen Stellen Fettdegeneration. Alle Kapillaren sind erweitert und darin finden sich Pestbakterien in spärlicher Anzahl. Kiemen: ist an allen Stellen pneumonisch infiltriert. In infiltrierten Alveolen findet man keine Bazillen. Darm: (Schnitte aus der hyperämischen Darmstelle) Schleimhaut ist hier und da losgestofsen und es entstehen geschwürige Defekte, in deren Grund der nekrotisierende Zottenrest (Fäulnis?) und hämorrhagische, etwas infiltrierte Submucosa frei zutage liegt. Im nekrotischen Herde findet man wenige zerstreute Pestbazillen und zahlreiche Darmbakterien. Der Darminhalt wurde mit Bouillon gemischt und 5 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt. Die damit injizierten 2 Meerschweinchen gingen an Pest zugrunde.

Nr. 2. Ein kleiner Goldfisch. Körpergewicht 8 g. 17. VIII. tot.

Nr. 3. Ein kleiner Goldfisch. Körpergewicht 8 g. 18. VIII. tot.

An beiden Fischen lassen sich fast dieselben makroskopischen und mikroskopischen Erscheinungen des Herzens, der Milz, der Leber und der Niere nachweisen, wie im vorigen Fall.

Nr. 4. Ein kleiner Karpfen. Körpergewicht 20 g. 19. VIII. tot.

Sektionsbefund wie bei Nr. 1. Es war deutlich sichtbar die Hämorrhagie in der Darmschleimhaut mit Bazillen.

Nr. 5. Ein kleiner Karpfen. Körpergewicht 22 g. Überlebend.

Die wichtigsten pathologischen Veränderungen der Versuchstiere sind:

1. Hochgradige, parenchymatöse Degeneration der Leber und Niere mit geringer Anzahl der Pestbazillen.
2. Spärliche Bazillen im Herzblut und Fettdegeneration des Herzmuskels.
3. Pneumonische Infiltration der Lunge, welche in keinem Zusammenhang mit dem Bazillus steht.
4. Hyperämie, Hämorrhagie und Nekrose der Dünndarmschleimhaut. In diesen Fällen tritt weder Bakteriämie, — d. h. sowohl Verschleppung der Pestbazillen ins Blut als auch Vermehrung darin —; noch Metastasenbildung in der Milz und Leber. Aber es ist bemerkenswert, dafs die Bazillen bei solchen Fütterungsversuchen immer ins Blut einschleppen können, wenn auch die Anzahl derselben sehr spärlich ist.

Versuch C.

Zwei Frösche (Nr. 15, 16) wurden vorher im Glaszylinder gefangen, welcher etwa 2 cm hohe Schlammschicht enthielt.

9. VIII. Pestbouillonkultur wurde auf die Schlammschicht ausgegossen. Ein Frosch davon (Nr. 15) ist nach 12 Tagen gestorben, der andere überlebend. Ein anderer Glaszylinder, der niedere Schicht des Wassers enthält, wurde erst mit 10 cc Pestbouillonkultur eingegossen, dann ein Frosch (Nr. 7) hineingebracht und nach einem Tag wieder in den neuen Zylinder gebracht. Der Frosch ist nach 12 Tagen gestorben, während ein Kontrolltier überlebte, welches im Glasgefäſs aufbewahrt war, das nur Wasser und Bouillon enthielt. Noch andere zwei Frösche (Nr. 17 u. 18) wurden mit den bazillenhaltigen Regenwürmern zusammen aufbewahrt. Beide Tiere sind noch überlebend, trotzdem der eine (Nr. 17) ein Stück des Wurmes gefressen hatte.

Nr. 7. Ein Frosch. Körpergewicht 11 g. Starke Abmagerung. In dem oberen Teil der beiden Unterschenkel entsteht ein ca. 1 cm breites Hautgeschwür, in dessen Umgebung subkutane Blutung auftritt. Im Schnitte kann man die Darmbazillen mit den ausgetretenen Blutkröperchen hier nachweisen.

In der Bauchhöhle befindet sich keine Flüssigkeit. Gedärme hyperämisch. Das Herz enthält halbflüssiges Blut. An anderen Organen findet man keine besonderen makroskopischen Veränderungen. In dem Herzblut- und Darminhaltausstrich lassen sich mikroskopisch bipolar gefärbte Bakterien auffinden.

Schnittpräparate. Die Milz zeigt keine nennenswerten Veränderungen und keine Bazillen. Leber: Zellkontouren sind etwas abgerundet. In den kleinen Lebervenen finden sich zwischen den roten Blutkörperchen sehr spärliche Bazillen. Auch die Niere zeigt das Bild einer ganz akuten parenchymatösen Degeneration. Einzelne Exemplare der Harnkanälchenepithelien sind kernlos. Vereinzelt finden sich kleine Blutungen in dem Lumen der Harnkanälchen. In den Nieren kann man die Bazillen nicht nachweisen. Lunge: keine Bazillen. Im Herzmuskel findet man ausgedehnte Fettdegeneration. Die Befunde im Dünndarm wie bei Goldfisch Nr. 1.

Nr. 13. Ein Frosch. Körpergewicht 15 g.

Starke Abmagerung. Bauchorgane zeigen sich fast kadaverös verändert, Magen und Darm haben noch ihre Form gehalten. Ein Abschnitt des

Darmes wurde abgeschnitten und mit Bouillon im Eisschrank 5 Tage aufbewahrt. Kultivierung und Tierversuch aus der Bouillon lassen Pestbazillen nachweisen.

Wichtige Sektionsbefunde sind:

1. Spärliches Auftreten der Bazillen im Blut und in der Leber.
2. Parenchymatöse Degeneration und Hämorrhagien in der Niere ohne Bazillen.
3. Hyperämie, Hämorrhagie und Nekrose der Dünndarmschleimhaut.
4. Fettdegeneration des Herzmuskels.

Hier habe ich noch hinzuzufügen, dafs einige Tiere ganz von der natürlichen Infektion vermifst waren, d. h. bei einem ungeimpften Frosch, der 9 Tage lang mit dem infizierten Frosch (Nr. 4) in einem Behälter gehalten wurde, und ebenso bei 2 Tritonen, welche selbst ungeimpft mit einem infizierten Triton (Nr. 9) 10 Tage lang zusammen aufbewahrt wurden.

Ich möchte noch einen Passagenversuch anführen. Es wurden 10 Frösche mit hochvirulenten Pestkulturen in die Bauchhöhle geimpft. Das erste Tier starb durch $^1/_{20}$ Öse Agarkultur nach 56 Stunden, während das letzte schon nicht mehr unter Einführung $^1/_2$ Öse erlag. Die so durch Passagen abgeschwächten Bazillen waren auch für Mäuse und Ratten ihre Virulenz abgenommen.

VII. Versuch mit Pesttoxine.

Um eine weitere Stütze für Erklärung der Intoxikationserscheinungen zu gewinnen, untersuchte ich auch die Wirkung von abgetöteten Pestbazillen und Bouillonkulturfiltrat auf den Frosch, Triton und Fisch.

Tabelle VIa.

Nr.	Gattung	Körpergewicht g	Art und Menge der Toxine	Stelle der Injektion	Ergebnis
1	Frosch	12,5	Filtrat[1]) 1,0 ccm	peritoneal	tot nach 10 Tagen
2	»	15,0	» 0,5 »	»	überlebend
3	»	15,5	» 0,3 »	»	do.
4	»	9,5	» 0,2 »	»	do.
5	»	19,5	» 0,1 »	»	do.
1	Triton	5,0	» 0,5 »	»	do.
2	»	5,0	» 0,3 »	»	do.
3	»	4,5	» 0,2 »	»	do.
4	»	5,0	» 0,1 »	»	do.
1	Karpfen	20,0	» 0,5 »	»	do.
2	»	18,0	» 0,3 »	»	do.
1	Maus	14,5	» 1,0 »	»	do.
2	»	13,5	» 0,5 »	»	do.

Tabelle VIb.

6	Frosch	12,0	Abgetötete B. 3 Ösen[2])	peritoneal	tot nach 2 Tagen
7	»	12,0	3 »	subk. a. Rücken	do.
8	»	13,0	2 »	peritoneal	do.
9	»	12,5	2 »	subkutan	überlebend
10	»	12,5	1 »	peritoneal	do.
5	Triton	5,0	2 »	do.	do.
6	»	5,0	1 »	do.	do.
7	»	4,5	$^1/_2$ »	do.	do.
3	Karpfen	18,0	2 »	do.	do.
4	»	18,0	1 »	do.	do.
3	Maus	12,0	1 »	do.	tot nach 10 Tagen

Es wurden Versuche im ganzen an 10 Fröschen, 7 Tritonen und 4 Karpfen, sowie an 3 Mäusen als Kontrolltiere, sowohl mit der abgetöteten Kultur als auch mit Kulturfiltrat vorgenommen. Durch Kulturfiltrate wurde nur 1 Frosch (Nr. 1) und durch die abgetöteten Bazillen 3 Frösche und eine Maus getötet. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dafs die Versuchstiere zu töten so vielmal gröfsere Menge sowohl der abgetöteten Kultur als

1) 32 Tage gezüchtete Bouillonkultur.

2) Agarkultur 55° C: 30 Minuten getötet. Die lebenden Bazillen derselben Kultur konnten die Mäuse mit $^1/_{1000}$ Öse in 3—5 Tagen töten.

auch der gelösten Toxine erforderlich sei, als die Dosis letalis bei der lebenden Kultur.

Sektionsergebnisse sind folgende:

Nr. 3. Maus.

Herz enthält halbflüssiges Blut. Milz angeschwollen, Leber etwas getrübt. Niere angeschwollen, Lunge normal.

Schnittpräparate. Milz: Ausgedehnte Blutung in der Pulpa, sonst keine nennenswerten Veränderungen des Gewebes. Leber: Ausgedehnte fettige Degeneration. Niere: Hochgradige Trübung und Verfettung der Rindensubstanz. Einige Blutungen zwischen den Glomeruli. Lunge: Stellenweise hämorrhagische sowie seröse Infiltration. Herz: Trübung und Verfettung.

Nr. 6. Frosch.

Herz enthält halbflüssiges Blut. Milz angeschwollen und hyperämisch. Leber gelblich. Niere angeschwollen und hyperämisch. In der Bauchhöhle findet man spärliche Anzahl der fast aufgelösten, kokkenartigen Pestbazillen.

Schnittpräparate. Milz: Die Kapillaren mit Blut gefüllt. In den Pulparäumen findet man Überfüllung von roten Blutkörperchen. Die zellige Pulpaelemente vermehrt. Leber: Kolossal vermehrte Fettablagerung und Trübung, aber Leberzellkerne noch gehalten. Kapillaren erweitert und mit Blut gefüllt. Niere: Hochgradige Trübung und Verfettung. Subkapsuläre Blutung und Austritt der roten Blutkörperchen in der Glomeruli. Lunge: Hyperämisch. Herz: Hochgradige Fettdegeneration.

Nr. 7. Frosch.

Makroskopisch wie bei Nr. 6.

Schnittpräparat, aufser der Hämorrhagie in der Leber findet man fast dieselben Erscheinungen wie bei Nr. 6.

Nr. 8. Frosch.

Wie bei Nr. 6.

Nr. 1. Frosch.

Milz normal. Leber graugelb. Niere etwas hyperämisch. Herz mit Blut gefüllt.

Schnittpräparate. Milz: Keine nennenswerten Veränderungen. Leber: Einige kleine Blutaustritte an den Blutgefäfsen und Fettdegeneration. Keine Hämorrhagie. Lunge: Etwas hyperämisch.

Wichtige Befunde bei den Fröschen sind:

1. Milzanschwellung und Blutung.
2. Trübung, Fettdegeneration und Hämorrhagie der Leber.
3. Trübung, Verfettung und Blutung der Niere.
4. Trübung und Verfettung des Herzens.

Es kann also schliefsen, dafs bei Fröschen die Einspritzung abgetöteter Pestkulturen bzw. der Kulturfiltrate fast genau so wie die der lebenden wirke. In Schnittpräparaten lassen sich die durch Toxine bedingten Veränderungen von denjenigen kaum unterscheiden, welche durch lebende Bazillen hervorgerufen werden.

VIII. Immunisierungsversuch an den Schildkröten.

Die bislang von vielen Autoren gearbeiteten Immunisierungsversuche gegen Pest beschränkten sich auf die Warmblüter. Es fehlten leider noch Versuche an Kaltblütern. Daher unternahm ich die Schildkröten sowohl mit lebender als auch abgetöteter Kultur zu immunisieren.

Schildkröte A. wurde mit der abgetöteten Kultur, B. mit der lebenden hochvirulenten Kultur vorbehandelt. Die betreffende Agarkultur war so virulent, dafs $^1/_{800}$ Öse die Ratten in 3 bis 5 Tagen töten kann. Die oftmalige Immunisierung der Tiere wurde derart ausgeführt, dafs mit 48stündigen gut bewachsenen Agarkulturen A. als solche aber B. getötet — 55° C: 30 Minuten — und in je 1 ccm Bouillon gleichmäfsig verteilt injiziert wurden.

A. Körpergewicht 620 g.

1\. IX. erhält subkutan am Fufse 18 Ösen der abgetöteten Kultur.
8\. IX. 36 Ösen subkutan.
15\. IX. 36 Ösen intraperitoneal.
25\. IX. 70 Ösen intraperitoneal. Körpergewicht 580 g.

B. Körpergewicht 450 g.

1\. IX. 3 Ösen subkutan.
8\. IX. 6 Ösen subkutan.
13\. IX. 13 Ösen intraperitoneal.
20\. IX. 60 Ösen intraperitoneal.
24\. IX. 80 Ösen intraperitoneal. Körpergewicht 400 g.

Von den so vorbehandelten Tieren wurde nach der letzten Immunisierung das Blut aufgenommen und auf Immunitätswert geprüft. Zur Wertbestimmung des Serums verwendete ich die Frösche, Tritonen und Mäuse.

Als die tödliche Dosis wird solche Menge genannt, durch welche Frösche (im Gewicht von 10—12 g), Tritonen (im Gewicht von 4—4,5 g) und weifse Mäuse (im Gewicht von 12 bis 15 g) in 30—60 Stunden (nämlich in 2—3 Tagen) getötet werden. Durch die wiederholten Prüfungen genügen $^1/_{10}$ Öse einer virulenten Pestbazillenkultur beim Frosche, $^1/_4$ Öse bei Tritonen und $^1/_{1000}$ Öse bei Mäusen, um die Tiere im angegebenen Zeitraum zu töten.

Tabelle VIIa.

Wirkungen des Serums A.

Serummenge	Kulturmenge	Tierart	Ergebnis
0,4	$^1/_{10}$ Öse	Frosch 1	gesund
0,3	»	» 2	tot nach 6 Tagen
0,2	»	» 3	» » 3 »
0,1	»	» 4	» » 5 »
0,05	»	» 5	» » 3 »
—	»	» 6	» » 2 »
0,4	$^1/_4$ Öse	Triton 1	gesund
0,3	»	» 2	»
0,2	»	» 3	tot nach 3 Tagen
0,1	»	» 4	» » 3 »
0,05	»	» 5	» » 5 »
—	»	» 6	» » 2 »
0,4	$^1/_{1000}$ Öse	Maus 1	» » 43 Stdn.
0,3	»	» 2	» » 45 »
0,2	»	» 3	» » 43 »
0,1	»	» 4	» » 46 »
0,05	»	» 5	» » 33 »
—	»	» 6	» » 33 »

Tabelle VIIb.

0,4	$^1/_{10}$ Öse	Frosch 1	gesund
0,3	»	» 2	tot nach 8 Tagen
0,2	»	» 3	» » 5 »
0,1	»	» 4	» » 5 »
0,05	»	» 5	» » 3 »
—	»	» 6	» » 3 »

Fortsetzung der Tabelle VII b.

Serum-menge	Kultur-menge	Tierart	Ergebnis
0,4	1/4 Öse	Triton 1	tot nach 5 Tagen
0,3	»	» 2	gesund
0,2	»	» 3	»
0,1	»	» 4	tot nach 5 Tagen
0,05	»	» 5	» » 5 »
—	»	» 6	» » 2 »
0,4	1/1000 Öse	Maus 1	tot nach 33 Stdn.
0,3	»	» 2	» » 33 »
0,2	»	» 3	» » 34 »
0,1	»	» 4	» » 32 »
0,05	»	» 5	» » 33 »
—	»	» 6	» » 33 »

Wenn man zunächst die Wirkungen des Serums »A. Schildkröte« im allgemeinen betrachtet, so wurde hier durch die Injektion von 0,4 des Serums 1 Frosch und 1 Triton, durch 0,3 1 Triton geschützt, während die Kontrolltiere sämtlich zugrunde gingen. Die Mäuse wurden keineswegs beeinflufst, abgesehen von der Verzögerung des Todes.

Ein ähnliches Ergebnis hat die Prüfung des Serums »B. Schildkröte« gezeigt. Was die Wirksamkeit der einzelnen Dosen anbetrifft, so zeigt sich, dafs bei 0,4 Serum 1 Frosch und 1 Triton, bei 0,3 1 Triton am Leben blieben. Auch hier wurden die Mäuse durch das Serum absolut nicht beeinflufst. Aus den genannten Untersuchungen, betreffend die Leistungen der Pestsera — sei es mit der abgeschwächten Kultur, sei es mit der lebenden, hochvirulenten Kultur vorbehandelt — ergibt sich, dafs die beiden Sera nur den Fröschen und Tritonen geringen Schutz vor einer tödlichen Pestinfektion verleihen können.

Agglutinierungsversuche.

Die nötigen Quantitäten der Agarkultur wurden vorsichtig in der physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt, in schmale Eprouvetten verteilt und zu allen das reine Serum resp. eine Ver-

dünnung desselben zugesetzt. Nach diesem Serumzusatz wurde jede Probe gründlich geschüttelt und sofort danach in den Brutschrank (37 ° C) gebracht. Die Untersuchung jeder einzelnen Probe folgte nach einer halben Stunde, dann nach 1, nach 2, nach 4, 6 und schliefslich nach 24 Stunden.

Das erhaltene Resultat ist tabellarisch dargestellt.

Tabelle VIII.

Normal-Schildkrötserum.

Verdünnung	Stunden									
	½	1	2	4	6	8	10	15	20	24
1 : 25	—	—	—	—	—	—	—	+		
1 : 50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pestserum »A«.										
1 : 25	—	—	—	—	—	+				
1 : 50	—	—	—	—	—	—	±	+		
1 : 100	—	—	—	—	—	—	—	+		
1 : 200	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
1 : 300	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
1 : 500	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
1 : 800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+ schwach
1 : 1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pestserum »B.«										
1 : 25	—	—	—	—	—	—	+			
1 : 50	—	—	—	—	—	—	+			
1 : 100	—	—	—	—	—	—	—	+		
1 : 200	—	—	—	—	—	—	—	±	+	
1 : 300	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
1 : 500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±
1 : 800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die in den Tabellen angeführten Stunden geben den Zeitpunkt des Auftretens der Reaktion an. Das Normalserum wurde aus einer anderen Schildkröte aufgenommen.

Wie man aus Tabelle VIII ersieht, liefert »A.« Schildkröte, die mit abgetöteten Kulturen vorbehandelt wurde, ein viel stärker agglutinierendes Serum als »B.«, bei dem lebende Kulturen verwandt wurden. Diese Tatsache stimmt mit dem Befund von Zabolotny(12) nicht überein. Der Autor befand, dafs die Tiere, welche mit abgetöteten Kulturen immunisiert werden, ein viel schwächer agglutinierendes Serum liefern als solche, bei denen lebende Kulturen verwandt wurden.

IX. Schlufsbetrachtung zum pathologisch-anatomischen Befunde.

Die nachgewiesenen wichtigen anatomischen Befunde bei den Kaltblütern sind folgende:

1. Leichtgradige nekrotische Entzündung und Blutung ohne nachweisbare fibrinöse Exsudation wie Eiterung an der Injektionsstelle.
2. Auftreten einer spärlichen Anzahl der Bazillen im Blut.
3. Peritonitis bei der intraperitonealen Impfung.
4. Hämorrhagische Erosion im Magen und Darm bei der Infektion per os, aber ohne Auftreten der massenhaft gehäuften Mikroorganismen im Krankheitsherde.
5. Milzanschwellung durch Hyperämie. Die Vermehrung der Pulpaelemente findet man sehr selten. Keine Metastasenbildung und keine Blutung in der Milz, abgesehen von einem Fall akuter Intoxikationen mit reichlicher Menge der abgetöteten Bakterien; dieser Fall zeigte in der Milz eine ausgedehnte Hämorrhagie.
6. Parenchymatöse Degeneration und Hämorrhagien der Leber ohne Bazillen oder selten mit Bazillen. Keine Metastasenbildung in der Leber.
7. Parenchymatöse Degeneration der Niere selten mit Bazillen
8. Pneumonische, auch selten hämorrhagische Infiltration der Lunge ohne Bazillenansiedelung.

9. Trübung und Fettdegeneration des Herzens.
10. Keine Bildung der eigentümlichen, durch Weigerts Methode nachweisbaren fibrinösen Massen in den Gefäfsen und in den Gewebsspalten.
11. Beim Fütterungsversuche an Fröschen und Fischen mit Pestreinkultur gingen die Mikroben von dem Magendarmtraktus aus in die Blutbahn über.
12. Die aus dem Körper der Kaltblüter gezüchteten Bazillen zeigen keinerlei dauernde biologische Abweichungen.

Wenn ich die oben erwähnten anatomischen Veränderungen in aller Kürze einer Kritik unterziehen mögen, so kann ich betonen, dafs die Veränderung der Kaltblüter an der Pest hauptsächlich zur Intoxikationserscheinung gehöre. Leichtgradige, lokale Entzündung und eine nicht so typische Herderscheinung im Darm — wie man sie auch bei den Warmblütern beobachten kann, — müssen wohl zur direkten Wirkung der Bazillen gezählt werden.

Es sei noch zu bemerken, dafs die Bazillen seinen wesentlichen Sitz nicht im Blut wählen, sondern nur bei starker Vermehrung in spärlicher Anzahl weiter in die Blutbahn eindringen.

X. Schlufssätze.

Die Resultate meiner Untersuchungen kann ich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Die Frösche (Rana esculenta), Karpfen (Cyprinus Carpio, L.), Goldfische (Carrasius sp.) und Tritonen (Triton pyrrhogaster, Boie.) sind für Pest sicher empfänglich. Tritonen sind aber weniger empfänglich, als die Frösche.
2. Die Infektion läfst sich durch Einführung von virulenten Kulturen sowohl intraperitoneal als auch durch Fütterung bewerkstelligen (bei dem Frosche in den Lymphsack).
3. Schildkröte (Celemmys Japonica, Gray. Emys Tosaensis und Trionix Japonicus, Schleg.) und Schlangen (Elaptus virgatus, Schleg.) scheinen immun für Pest zu sein.
4. Impfversuche an einer Kröte (Bufe vulgaris) und einer Gekko (Platidactylus jamori, Schleg.) waren erfolglos.

Es müssen weitere Versuche ausgeführt werden, um zu sicheren Resultaten zu gelangen.

5. Regenwürmer charakterisieren sich fast immun, obwohl ein Teil derselben während des Versuches hinfällig zugrunde gingen.
6. Die im Regenwürmerkörper 70 Tage lang aufgehaltenen Bazillen zeigen keine Abschwächung ihrer Virulenz.
7. Die Regenwürmer können für die Verbreitung der Pest eine gewisse Rolle spielen.
8. Bei den wiederholten Passagen von Pestbazillen durch die Frösche kann man eine Abschwächung der Virulenz nachweisen.
9. Das pathologisch-anatomische Bild der Pest bei den Kaltblütern ist als eine lokale Erkrankung mit allgemeiner Intoxikation und gelegentlicher Verschleppung des Mikroorganismus in den Kreislauf zu betrachten, wenigstens soweit als unter meinen Versuchstieren.
10. Die durch die abgetöteten Bazillen oder durch den Bouillonkulturfiltrat verursachten Veränderungen sind sowohl qualitativ als auch quantitativ fast analog, wie dieselben durch die Injektion der lebenden Bazillen.
11. Das Serum der Schildkröten, welches Fröschen und Tritonen vor ihrer Pestinfektion durch tödliche Dosis gut zu schützen vermag, entfaltete bei Mäusen nicht die Schutzwirkungen gegenüber der Pestinfektion.

    Im Sinne der Ehrlichschen Auffassung ist diese Tatsache vielleicht so zu erklären, dafs die Ambozeptoren des Schildkrötenserums nur bei Fröschen und Tritonen, nicht aber bei Mäusen das passende Komplement finden.
12. Das Serum einer mit lebenden Bazillen vorbehandelten Schildkröte agglutiniert etwas stärker, als das der mit abgetöteten Bazillen immunisierten.

Meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Professor Sata, spreche ich an dieser Stelle für die mir gewährte Unterstützung und Förderung meinen ergebensten Dank aus.

Osaka, den 1. November 1906.

Literaturverzeichnis.

1. Nutall, Zur Aufklärung der Rolle, welche die Insekten bei der Verbreitung der Pest spielen. C. f. Bakteriolog. und Parasitenk. u. Infektionsk. 1. Abt., XXII. Bd., 1897.
2. Devell, Über die Empfänglichkeit der Frösche für Infektion mit Bubonenpest. Ebenda, XXII. Bd., 1897.
3. Babes V. u. Livadite C., Über einige durch den Pestbazillus verursachte histologische Veränderungen. Virchows Archiv, Bd. CL, S. 343.
4. Honl, Pestis bubonica. C. f. allgem. Path. u. pathol. Anatomie, Bd. IX, Nr. 5.
5. Van der Stricht, Lésions anatomo-pathologiques produites par le microbe de la peste. Referat: C. f. allgem. Path. u. path. Anatomie, Bd. IX.
6. Lustig-Zardo, Beitrag zum Studium der feineren Gewebsveränderungen bei der experimentellen Beulenpest. C. f. allg. Path. u. path. Anatomie, Bd. 8, 1897.
7. Sata, Experimentelle Beiträge zur Ätiologie und pathologische Anatomie der Pest, 1. Arch. f. Hygiene, Bd. 37, 1900.
8. Sata, Über Fütterungspest und das Verhalten des Pestbazillus im tierischen Körper nach dem Tode des Organismus, II. Ebenda, Bd. 39, 1901.
9. Despeignes u. Lortel, De la tuberculose experimentale chez les lombrics. Etudes exper. et clin. Sur la Tub., 1892.
10. Janson, Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde, Bd. 21, S. 451.
11. Lowson, British med. Journal, 1897.
12. Zabolotny, Arch. d. Scienc. biol. de St. Petersbourg, 1901.

Über die Bedeutung des Bacillus coli communis als Indikator für Verunreinigung von Wasser mit Fäkalien.

Von

Kenji Saito.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto.
Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Eine gröfsere Bedeutung als den Fäulniserregern messen die meisten Hygieniker der Anwesenheit des Bacillus coli communis im Wasser zu; dieser soll direkt auf Verunreinigung mit menschlichen Fäkalien hinweisen.

Es ist aber schon längst bekannt, dafs der Bacillus coli comm. überall zu finden ist; auch betonen einige Autoren, dafs der Bacillus coli communis als Kriterium für die Verunreinigung eines Trinkwassers versage. Miquel, wohl die erste Autorität auf dem Gebiete der bakteriologischen Luft- und Wasseruntersuchung, findet den Kolibazillus fast in jedem Trinkwasser, wenn nur hinreichende Wassermengen zur Analyse verwendet werden.

Über den Wert der bakteriologischen Wasseruntersuchungen schreibt Migula[1]: »Wichtiger aber noch als die Zahl ist der Charakter der in einem Wasser vorkommenden Arten. Bakterien, welche in reinen Gebirgsquellen vorkommen, fehlen in den Ab-

1) Migula, Die Artzahl der Bakterien bei der Beurteilung des Trinkwassers; Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. VIII, 353, 1890; der Wert der bakteriologischen Wasseruntersuchung, Arbeiten aus dem Bakteriologischen Institut der Technischen Hochschule zu Karlsruhe, Bd I, 535, 1897.

wässern von Städten, in Dunggruben oder Kotlachen und umgekehrt. Es gibt Arten, welche als regelmäfsige Bewohner menschlicher und tierischer Fäkalmassen anzutreffen sind, sich auch in reinem Wasser sich wohl eine Zeitlang am Leben zu erhalten vermögen, aber doch die ihnen zusagenden Existenzbedingungen nicht finden und schliefslich verschwinden.

Derartige Fäkalbakterien deuten stets auf ein Wasser, welches in hygienischer Beziehung durchaus nicht gleichgültige Verunreinigungen erfahren hat und möglicherweise auch Krankheitskeime bergen oder geborgen haben kann. Die Gefahr einer Neuinfektion ist aber dann immer vorhanden, und das Wasser mufs so lange als verdächtig bezeichnet werden, bis der Infektionsweg gefunden und verschlossen ist.

Deshalb ist die genaue Kenntnis dieser Fäkalbakterien für die bakteriologische Wasseruntersuchung eines der wichtigsten Erfordernisse.«

Géré[1]) hat in allen Trinkwässern von Algier den Bacillus coli communis nachgewiesen, was er auf Verunreinigung durch Fäkalien bezieht.

Das Ergebnis seiner Untersuchungen fafst Davalos[2]) dahin zusammen, dafs in dem von der Mehrzahl der Bevölkerung der Stadt Habana zum Trinken gebrauchten Wasser des Grabens (1591 angelegt) der Bacillus coli communis beständig in grofser Menge vorkommt, aber nicht als einfacher Saprophyt, sondern als höchst virulenter Krankheitskeim, und dafs es daher sehr gefährlich ist, das Wasser dieses Grabens zu trinken, ohne es vorher zu kochen oder durch ein geaichtes Chamberland filter zu reinigen. Über die Infektionsquelle hat er leider nichts geschrieben.

Nach Dunbar[3]) findet sich der Kolibazillus nur in verunreinigtem Wasser. »Bei der mangelhaften Anlage eines grofsen

1) Géré, Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. IX, 609, 1891.

2) Davalos, Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. XII, 871, 1892.

3) Dunbar, Untersuchung über den Typhusbazillus und den Bacillus coli communis. Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XII, 484, 1892.

Teiles derjenigen Reservoire, aus welchen Brauchwasser entnommen wird, mufs man von vornherein erwarten, dafs sich in recht vielen Wässern der Bacillus coli communis wird nachweisen lassen. In der Tat trifft man ihn in offenen Flufsläufen, welche jeder Verunreinigung ausgesetzt sind, häufig in grofser Zahl.

Auch in dem Wasser von Kesselbrunnen, welche nahe bei Dunggruben gelegen und der Verunreinigung von der Oberfläche her sehr zugängig waren, haben wir ihn gefunden, während er in reinen Wässern vermifst wurde.«

Lehmann[1]) schränkt die Bedeutung des Kolibazillus als Indikator für Fäkalverunreinigungen dadurch ein, dafs er auf die grofse Varietätenzahl hinweist, welche zur Vorsicht mahne, »nicht aus jedem im Wasser gefundenen koliartigen Organismus eine Verunreinigung des betreffenden Wassers abzuleiten.«

Von Guiraud[2]) wurde bei der bakteriologischen Untersuchung des Trinkwassers in Toulouse besonders auf das Vorkommen von Typhusbazillen und von Bacterium coli commune geachtet und dabei das Verfahren von Péré und Vincent angewendet, von denen namentlich das erstere die besten Dienste geleistet haben soll. Während nun der Nachweis von Typhusbazillen niemals gelang, konnte fast regelmäfsig das Bacterium coli commune angetroffen werden. Hieraus zieht er den Schlufs, dafs das betreffende Wasser durch Fäkalstoffe verunreinigt sei.

Im Jahre 1894 schreibt Schardinger[3]): »Das Bacterium coli commune Esch. kommt meiner Erfahrung nach nicht so häufig vor, als vielfach angenommen wird, dafür spricht der relativ seltene Nachweis im Trinkwasser und das Fehlen desselben als zufällige Luftverunreinigung auf Platten.« »In vielen hundert Wasseruntersuchungen habe ich fünfmal das Bacterium coli commune nachgewiesen.«

---

1) Lehmann, Die Methoden der praktischen Hygiene, Wiesbaden 1890.

2) Guiraud, Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. 17, 88, 1894.

3) Schardinger, Beitrag zur hygienischen Beurteilung des Trinkwassers. Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. XVI, 855, 1894.

Nach Kruse[1]) würde auch der Bacillus coli communis wohl seltener gefunden werden, wenn man sich die Mühe geben würde, »einen im Wasser gefundenen Bazillus mit allen Mitteln der jetzt recht komplizierten Diagnostik mit jenem Typus zu identifizieren«.

Im schroffen Gegensatz zu den erwähnten Autoren stellt sich Freudenreich[2]). Er fand das Bacterium coli commune häufig, selbst in Quellenwasser, wenn man z. B. bei Anwendung der Vincentschen Methode ca. 100 ccm auf einmal zur Untersuchung gelangen läfst (Wasser 90 ccm, 20proz. Peptonlösung 10 ccm, 1 ccm einer 7proz. Karbolsäurelösung und Bebrütung bei 42° C), während es sich in einem Kubikzentimeter nicht nachweisen läfst. Einmal hat es Freudenreich in einem ca. 6 m tief gefafsten Quellenwasser vorgefunden, welches sonst chemisch und bakteriologisch sehr rein war; dieses enthielt bei einer ersten Analyse 32, bei einer zweiten Analyse 17 Bakterien pro ccm — freilich auch bei Verwendung von 100 ccm Wasser, während die Impfung von 15 Tropfen in Karbolbouillon gar keine Trübung hervorrief. Während so Freudenreich einerseits überzeugt ist, dafs das blofse Vorkommen von Bacterium coli nicht genüge, um ein Trinkwasser zu diskreditieren, gibt er anderseits zu, dafs der Befund von Koli doch nicht ganz belanglos sei und stützt sich hierbei auf folgende Tatsachen:

»In jedem schlechten Wasser, d. h. chemisch beanstandbaren (z. B. Vorhandensein zu vieler organischer Substanz) und sonst sehr bakterienreichen Wasser ist der Bacillus coli reichlich vorhanden.«

»Kommt er in bakterienarmem und chemisch gutem Wasser vor, so ist er darin nur sehr spärlich vorhanden.«

»Sehr oft, aber auch nur wenn es sich um ein sonst als sehr gut anerkanntes Wasser handelt, fehlt er auch ganz.«

1) Kruse, Kritische und experimentelle Beiträge zur hygienischen Beurteilung des Wassers, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XVII, 53, 1894.

2) Freudenreich, Über den Nachweis des Bacillus coli comm. im Wasser und dessen Bedeutung. Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. 18, 102. 1895.

»Daraus ergibt sich, dafs sein Fehlen jedenfalls zu den Eigenschaften eines sehr guten Trinkwassers gehört, und dafs sein massenhaftes Vorkommen stets nur bei schlechtem Wasser auftritt, während ein spärliches Vorhandensein desselben nicht absolut gegen die Brauchbarkeit des betreffenden Wassers spricht, wenn dabei das Wasser den sonstigen chemischen und bakteriologischen Anforderungen entspricht.«

Gärtner[1]) sagt: »Wir sehen also, mit den Fäulnis- und Kotbakterien und ihrer Bestimmung im Wasser ist fast nichts für die Beurteilung eines Wassers zu machen, wir wissen zunächst nicht, welche Bakterien zu den Fäulnisbakterien zu rechnen sind, von den Kotbakterien treten alle zurück bis auf das Bakterium coli commune, dieses aber ist ebenso wie die meisten sogen. Fäulniserreger ubiquitär, beide Arten brauchen nicht an den Menschen und seinen Verkehr gebunden zu sein, und in nicht keimfreiem Wasser finden sich die erwähnten Bakterien in einzelnen Exemplaren leicht ein.«

In seiner umfassenden Monographie über mikroskopische Wasseranalyse schreibt Mez[2]): »Man hat dem Bacterium coli zwar seine Bedeutung als typischen Darmorganismus auch schon abgesprochen und darauf hingewiesen, dafs dasselbe schon wenige Stunden nach der Geburt in den Darm des Menschen und der höheren Tiere hineingelangt, dafs es an den verschiedensten Orten und bei den verschiedensten Gelegenheiten sich findet und deswegen noch keinen Beweis für die Fäkalverunreinigung des Wassers darstelle.

Diesem gegenüber ist zu betonen, dafs wir Menschen, wenigstens wir Städter, leider überhaupt in einer Atmosphäre leben, welche überall und allerorten einen Staub enthält, der Fäkalreste in reichlichstem Mafse mit sich führt. Dementsprechend ist es nur selbstverständlich, dafs wir das Bacterium coli in unserer Umgebung sehr häufig finden. Gerade die Regelmäfsigkeit und Geschwindigkeit, mit welcher Bacterium coli, oft

1) Gärtner, Über Methoden, die Möglichkeit der Infektion eines Wassers zu beurteilen. Berlin 1895.

2) Mez, Mikroskopische Wasseranalyse. Berlin 1898.

schon vor der ersten Nahrungsaufnahme des Kindes, vom After her in den Darm eindringt, ist der beste Beweis dafür, dafs es ein typischer Darmorganismus ist.

Wenn es nun möglich ist, diesen Spaltpilz in dem Wasser eines Brunnens nachzuweisen, so ist damit die Kommunikation zwischen der Flora irgend eines Darmes und dem Brunnenwasser bewiesen. Diese Kommunikation ist nur dadurch möglich, dafs Fäkalien oder Fäkalauslaugungen oder Fäkalstaub in den Brunnen gelangt sind: unter allen Umständen ist die Entdeckung einer solchen Kommunikation von gröfster Wichtigkeit.«

Levy und Bruns[1]) sagen: »Der rein morphologische Nachweis von Koli-Bazillen gibt noch nicht genügende Sicherheit über seine Bewertung als Fäcesbakterium, es gehört dazu dessen Pathogenität.«

Im Jahre 1900 kommt Weifsenfeld[2]) zu dem Schlusse, dafs der Befund des Bacillus coli communis im Wasser eine Verunreinigung dieses Wassers durch Fäkalbakterien nicht bedeutet, da es »aus Wässern jeder Herkunft, guter und schlechter, zu züchten« sei, wenn man nur genügend grofse Mengen des Wassers zur Untersuchung nehme. (Bei schlechten Wässern — aber auch bei vielen guten — war schon aus jedem Kubikzentimeter Wasser der Bacillus coli zu züchten. Von manchen guten Wässern mufsten gröfsere Mengen zur Kultur genommen werden). Weifsenfeld sagt ferner noch, dafs »der Bacillus coli communis in keiner Weise charakteristisch sei für die Fäces der Menschen oder Tiere, sondern dafs solche Bakterien sich überall, in der Luft, im Boden, im Wasser aller verschiedensten Ursprungs finden.«

Smith[3]) fand in 800 ccm des Leitungswassers den Bacillus coli communis.

1) Levy und Bruns, Zur Hygiene des Wassers, Archiv für Hygiene, Bd. XXXVI, S. 178, 1899.

2) Weifsenfeld, Der Befund des Bact. coli im Wasser und das Tierexperiment sind keine brauchbaren Hilfsmittel für die hygienische Beurteilung des Wassers. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXXV, S. 78, 1900.

3) Smith, Zentralbl f. Bakteriologie, Bd. XXX, S. 211, 1900.

Chick[1]) hat sich in Fortsetzung früherer Arbeiten mit der Frage beschäftigt, ob der Kolibazillus eine ubiquitäre Verbreitung besitze oder sein Vorkommen als Folge einer Verunreinigung des betreffenden Materials mit Darmentleerungen anzusehen sei, und deshalb Proben von Luft, von gedüngter Ackererde, von Strafsenstaub und Kehricht, sowie von Schmutzlachen einer entsprechenden Prüfung unterwerfen.

Von der Luft wurden mehrere hundert Liter durch ein aus Watte und Glaswolle bestehendes Filter gesogen und letzteres dann ebenso wie die untersuchte Erde mit sterilem Wasser ausgewaschen, die so gewonnene Spülflüssigkeit aber endlich zur Anfertigung von Platten aus Karbolagar benutzt. Die hier entwickelten verdächtigen Kolonien übertrug er in Gährungskölbchen, die 2 proz. Peptonwasser mit 1 proz. Milchzucker enthielten; Vergärung des Milchzuckers unter Bildung von Gas und Säure gibt er als sicherstes Zeichen zur Erkennung und Unterscheidung des Bacillus coli von anderen Mikroorganismen an.

In der Luft wurde der Bazillus nur ein einziges Mal nachgewiesen, als diese aus einem schlecht ventilierten Stalle herrührte und obwohl Mengen bis zu 250 l und mehr verarbeitet wurden. Aber auch in den sonstigen Proben war der Bazillus seltener, als man zunächst hätte glauben sollen, und selbst im Strafsenstaub oder in der Ackererde fehlte er häufig, wenn es sich nicht um feuchtes oder nasses Material handelte. Er führt die Tatsache auf die grofse Empfindlichkeit des Kolibazillus gegen den Einflufs des Austrocknens und des Sonnenlichts zurück, die er in einer Reihe besonderer Versuche noch genauer feststellt.

Nach alledem gelangt Chick zu dem Schlufs, dafs die Anwesenheit des Kolibazillus in derartigen Substanzen als ein Beweis für eine frische Beschmutzung derselben anzusehen sei.

Zu einem ähnlichen Schlusse mit Weifsenfeld und Chick kommt Papasotiriu[2]): »Im Wasser ist die Anwesenheit von

1) Chick, Ref. Hygien. Rundschau, Bd. XII, S. 647, 1902.

2) Papasotiriu, Untersuchungen über das Vorkommen des Bact. coli im Teig, Mehl und Getreide, nebst einigen Bemerkungen über die Bedeutung des Bact. coli als Indikator für Verunreinigung von Wasser mit Fäkalien. Archiv f. Hygiene, Bd. 41, S. 209, 1902.

spärlichen Keimen von Bacterium coli commune ohne jede diagnostische Bedeutung. Durch Anwesenheit einer Vorkultur kann man mindestens die Anwesenheit von spärlichen Individuen von Bacterium coli sehr oft nachweisen, wie Weifsenfeld gezeigt hat.« »Die Anwesenheit zahlreicher Individuen von Bacterium coli in einem frisch geschöpften Wasser kann, wie man längst gewufst hat, und wie durch die Beobachtung von H. Chick weiter festgestellt ist, den Verdacht auf fäkale Verunreinigung eines Wassers erwecken. Es mufs aber bei der weiten Verbreitung des Bacterium coli der Schlufs auf das wirkliche Bestehen dieser Verunreinigung noch durch andere Hilfsmittel gestützt sein, denn z. B. die Abwässer einer Bäckerei können eine Menge Bacterium coli in ein Wasser bringen. Bacterium coli vermehrt sich unter günstigen Bedingungen (höhere Temperatur, Kohlehydrate usw.) sehr leicht in Wasser.«

Meusburger und Rambousek[1]) schreiben: »Sobald es sich um eine Trinkwasseruntersuchung handelt, bleibt es zur Beurteilung der Geniefsbarkeit des Wassers natürlich vollkommen gleichgültig, ob Kolibazillen oder Typhuskeime in denselben konstatiert wurden; denn falls man auch nur Kolibazillen findet, mufs man das betreffende Wasser als mit tierischen oder menschlichen Exkrementen verunreinigt, also als ungeniefsbar bezeichnen. Auch im Falle eines Infektionsverdachtes (mit Typhusbazillen oder Dysenterie) genügt es, Kolibazillen im Wasser nachgewiesen zu haben, um sagen zu können, dafs hier die Infektionsmöglichkeit mit eventuell gleichzeitig vorhandenen, nicht entdeckten, überwucherten oder durch die grofse Azidität des Bodens im Wachstume gehemmten Typhuskeimen vorhanden sei; denn die Kommunikation mit irgend einer Infektionsquelle (Kanal, Senkgrube, Dünger etc.) ist erwiesen.«

---

1) Meusburger und Rambousek, Beitrag zum bakteriologischen Nachweise von Trinkwasserverunreinigungen anläfslich infektiöser Erkrankungen. Zentralblatt f. Bakteriol., I. Abteil., Originale, Bd. XXXII, S. 477, 1902.

Hirschbruch und Schwer[1]) erwähnen auch noch: »Bei unseren Untersuchungen von Wasser haben wir häufig — unabhängig davon, ob Typhusbazillen im Wasser sich fanden oder nicht — die Anwesenheit des Bacterium coli commune als wichtiges Stigma der Wasserverunreinigung erachtet, und wir halten die Kolidiagnose im öffentlichen hygienischen Dienst bei der Beurteilung von Trinkwässern für fast ebenso wichtig wie die Eruierung des Typhusbazillus selbst. Zeigt uns doch der Kolibazillus eine bestehende Kommunikation zwischen dem Brunnen, Bach, See usw. und den irgendwo abgelagerten Fäkalien an. Wo eine solche Verbindung aber besteht, ist eine Verseuchung des Wassers mit Typhus jederzeit möglich.«

Petruschky und Pusch[2]), die sich mehrere Jahre über die Frage, inwieweit sich das Vorkommen des Bacillus coli im Wasser als Indikator für eine Verunreinigung des Wassers mit Fäkalien verwenden lasse, beschäftigten, kommen zu folgendem Gesamtergebnis: »Die Ubiquität des Bacterium coli konnte keineswegs bestätigt werden. Wiederholt haben wir Wasserproben untersucht, die in der ganzen für uns verfügbaren Menge kein Bacterium coli enthielten.

In einigen reinen Brunnenwässern war Bacterium coli selbst in Mengen von $^3/_4$ l nicht nachweisbar, in wenig verunreinigten in 100, 10 bzw. 1 ccm.

In stark verunreinigten Wässern, namentlich Flufswässern, wurde Bacterium coli stets gefunden; durch quantitative Bestimmung des Koligehaltes konnte ein guter Mafsstab für die Fäkalverunreinigung des Wassers gewonnen werden.«

Escherich und Pfaundler[3]) äufserten sich über die Verbreitung des Kolibazillus wie folgt: »Bacillus coli ist ein auch

1) Hirschbruch und Schwer, Prüfung des Typhusnährbodens nach v. Drigalski und H. Conradi und einer nach ähnlichen Prinzipien hergestellten Bouillon. Hygienische Rundschau, Bd. XIII, S. 864, 1903.

2) Petruschky und Pusch, Bacterium coli als Indikator für Fäkalverunreinigung von Wässern. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 43, S. 304, 1903.

3) Escherich und Pfaundler, Bacterium coli comm., Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, herausgegeben von W. Kolle und A. Wassermann, Bd. II, S. 400, 1903.

in der Aufsenwelt sehr weit verbreiteter Keim. Man hat sogar von seiner »Ubiquität« (Henke, Flügge) gesprochen, doch ist dies nur in beschränktem Sinne gerechtfertigt, denn man wird — sofern man an der von Escherich für das »Bacterium coli« vorgeschlagenen Begriffsumgrenzung festhält — finden, dafs sich sein Vorkommen in der Natur an die Bedingung einer direkten oder indirekten Verunreinigung des Fundortes mit menschlichen oder tierischen Darmsekreten knüpft.«

Am XIII. Internationalen Kongrefs für Hygiene und Demographie zu Brüssel (1903) erwähnte Löffler: »Besondere Methoden zum Nachweise von Kolibakterien oder bestimmten Fäulnisorganismen sind nicht erforderlich, da der Nachweis dieser Bazillenarten für sich allein kein abschliefsendes Urteil über die Brauchbarkeit eines Wassers gestattet.« Allerdings drückt sich Löffler hier weniger scharf aus, indem er dem Befunde des Kolibazillus in Verbindung mit anderen gravierenden Befunden doch eine Bedeutung beizumessen scheint.

In der jüngsten Zeit sagt Kaiser[1]), dafs die Ansicht, das typische Bacterium coli (wurde in 22% aller Fälle gefunden) oder die Koliarten (30% aller Fälle gefunden) seien in Brunnenwässern allgemein verbreitet, irrig ist und die Verwertung des Bacterium coli als Indikator für Fäkalverunreinigung eine gewisse Wahrscheinlichkeit hat.

Aus den oben ausgeführten verschiedenen Arbeiten ersehen wir, dafs die Autoren teils Anhänger, teils Gegner der Annahme sind, dafs der Bacillus coli communis als Index für die Trinkwasserverseuchung aufgestellt werden kann; dieser Streit ist nicht beendigt. Deshalb lohnt sich die Untersuchung der Frage, ob der Bacillus coli communis in jedem Brunnenwasser zu finden ist und ihm eine Bedeutung als Indikator für Fäkalverunreinigung beizumessen ist.

1) Kaiser, Über die Bedeutung des Bacterium coli im Brunnenwasser. Archiv f. Hygiene, Bd. 52, S. 148, 1905.

Bei ihrer grofsen Wichtigkeit für die hygienische Beurteilung des Wassers habe ich sie unter Leitung von Herrn Professor Matsushita einer erneuten Bearbeitung unterzogen.

Da es von vornherein nicht anzunehmen war, dafs man Koli bei der Aussaat geringer Wassermengen oder gar nur eines Kubikzentimeters antreffen würde, so war die Indikation für eines der zahlreichen Anreicherungsverfahren gegeben.

Als erster darf Thoinot genannt werden, welcher, gestützt auf die Erfahrungen von Chantemesse und Widal, dafs Bacillus typhosus im Gegensatz zu anderen Bakterien auf 0,2 proz. Karbolgelatine gut wachse, diese Eigenschaft zu einem Isolierverfahren ausbeutete.

In ähnlicher Weise hat Geré[1]) gearbeitet; sein Verfahren ist folgendes: In einen Mefskolben zu 1 l kommen 100 ccm neutrale, sterile Rindsbouillon, 50 ccm neutrale sterile 10proz. Peptonlösung und 600—700 ccm des zu untersuchenden Wassers; ferner 20 ccm einer 5proz. Lösung von reiner Karbolsäure; schliefslich wird mit dem zu untersuchenden Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Im Liter sind dann 1 g Karbolsäure und 830 ccm des zu prüfenden Wassers. Das Ganze wird in 10 sterile mit Watte verschlossene Kolben verteilt und bei 32—36° C (nicht darüber!) kultiviert. Falls Koli- oder Typhusbazillen zugegen sind, tritt Trübung ein — um so früher, je gröfser die Verunreinigung ist — gewöhnlich in 15—20 Stunden, bei sehr geringer Verunreinigung erst in etwa 30 Stunden. Nach deutlich eingetretener Trübung wird eine Platinöse voll in gewöhnliche sterile Bouillon übertragen, wobei man oft bereits eine Reinkultur des Bacillus coli communis oder Typhusbazillus oder von beiden gemischt erhält. Um sicher zu Reinkulturen zu gelangen, empfiehlt sich 2—3malige wiederholte Aussaat in die obige karbolisierte Bouillon. Kleber[2]) hat auch als Vorkultur peptonhaltige Bouillon mit 1- bzw. 2promill Karbolzusatz benutzt.

---

1) Geré, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 9, S. 609, 1891.

2) Kleber, Qualitative und quantitative bakteriolog. Untersuchungen des Zürichseewassers. Hygien. Rundschau, Bd. 5, S. 199, 1895.

Die Jordansche[1]) Methode ist folgende: Die gewünschte Wassermenge wird in Karbolsäurefleischbrühe bebrütet (incubated), die mit 5 bis 5,5 Säure nach Fullers Skala bereitet ist und Karbolsäure in Verhältnis von 1 : 1000 enthält. Nach Inokulation bei 38—40° während 12—18 Stunden werden Plattenkulturen auf Lackmus-Laktose-Agar gemacht, und Kolonien, die dieses Medium röten, werden geprüft auf Milchgerinnung, Indolerzeugung, Verflüssigung von Gelatine und Gasbildung in Glykose-Fleischbrühe.

Unwesentlich modifiziert wurde die obengenannten Methode durch Parietti[2]), welcher die Wasserprobe mit einer Mischung von 5 proz. Karbol- und 4 proz. Salzsäure versetzt. Als die nützlichste Methode zur Trennung von Bac. coli zeigte Smith[3]) die Anwendung von Pariettis Lösung und auch die anaerobische Sodium-Formal-Glykosemethode, wie sie von Pake empfohlen wird. Weifsenfeld[4]) verfuhr so, dafs er 1 ccm des betreffenden Wassers in ein Röhrchen mit Bouillon brachte, dazu einige Tropfen der Pariettischen Lösung (5 proz. Karbolsäure, 4 proz. Salzsäure) fügte und die Röhrchen 24 Stunden lang bei 37° bebrütete. Dann wurden Tröpfchen der Mischkultur mittels Platinpinsels auf Gelatineplatten verstrichen. War kein Wachstum in der Mischkultur eingetreten, so wurden grofse Wassermengen (gewöhnlich $^1/_2$ bis 1 l nach Zufügung von $^1/_2$ bis 1 proz. Pepton und Kochsalz in 10 proz. Lösung) einer ähnlichen Probe unterworfen. Später wurde Pariettis Verfahren durch Meusburger und Rambousek[5]) für den Landarzt handlicher gemacht.

---

1) Jordan, Über die Entdeckung des Bact. coli comm. im Wasser. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 27, S. 679, 1900.

2) Parietti, Ref. aus dem Zentralblatt f. Bakteriol., Bd. 32, Originale, S. 476.

3) Smith, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 30, 1900.

4) Weifsenfeld, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 35, 1900.

5) Meusburger und Rambousek, Zentralblatt f. Bakter., Bd. 32, S. 476, 1902.

Im Gegensatz zu den obenerwähnten Autoren macht Burri[1]) seinen Nährboden nicht nur nicht sauer, sondern fügt ihm sogar 0,75 proz. wasserfreie Soda zu und will damit gute Resultate erzielt haben.

Graziani und Abba verwendeten Laktose mit einem Zusatz von Phenolphthalein. Abba[2]) bereitete eine Nährlösung, die folgende Substanzen enthält:

Milchzucker	200 g
Trockenes Pepton . .	100 g
Chlornatrium	50 g
Wasser	1000 g.

Dieselbe wird im Dampfapparat ½ Stunde lang bei 100° C gekocht, dann abfiltriert und in Gläschen von je 100 ccm Inhalt aufbewahrt. Für 1 l des zu untersuchenden Wassers genügt ein Zusatz von 100 ccm der beschriebenen Lösung plus ½ ccm einer 1 proz. alkoholischen Phenolphthaleinlösung; das ganze Gemenge wird durch den weiteren Zusatz von kohlensaurem Natron in kalt gesättigter Lösung bis auf Rosafarbe getont. Vorhandensein von Coli verrät sich durch Vergärung, Entfärbung und üblen Geruch.

Schardinger[3]) isolierte Bacillus coli communis auf folgende Weise: Durch Vermischen von Wasser mit zuckerhaltige (5 proz.) Bouillon — er verwendete gewöhnlich 30 ccm Bouillon 70 ccm Wasser — Anreicherung bei 37° durch 24 Stunden und nachträgliche Aussaat auf Platten gelingt es, aus wirklich verschmutztem Wasser zahlreiche Arten von gärungserregenden Keimen zu isolieren. Aufser der Zuckerbouillon verwendet er auch sterile Lösungen von 1 g Pepton (Witte) und 1 g Kochsalz in 10 ccm aqu. dest., die, mit 100 ccm des zu untersuchenden

---

1) Burri, Nachweis von Fäkalbakterien im Trinkwasser. Hygienische Rundschau, Bd. 5, S. 49.

2) Abba, Über ein Verfahren, den Bacillus coli communis schnell und sicher aus dem Wasser zu isolieren. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 19, S. 13, 1896.

3) Schardinger, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 16, S. 853.

Wassers vermischt, bis zu 24 Stunden bei Brüttemperatur gehalten wurden. Er untersuchte beim Peptonverfahren auf das Vorhandensein eines »ausgesprochen fäkulenten Geruches« auf H_2S- und Indolbildung. H_2S wird chemisch nachgewiesen durch Einhängen eines mit Bleikarbonat überzogenen Papierstreifens. Schardingers Methode wurde auch von Weifsenfeld[1]) und in der letzten Zeit von Petruschky und Pusch[2]) verwendet. Letztere haben die Untersuchung in der Weise angestellt, dafs verschiedene steril angemessene Wasserquanten, mit etwa der gleichen Menge Bouillon versetzt, zur Anreichung in den Brütschrank gestellt und von den nach 24 Stunden getrübten Proben durch Ösenausstriche auf Agarplatten Aussaaten gemacht wurden.

Freudenreich[3]) gelang es, Koli zu isolieren, indem er das Ausgangsmaterial mit 5 proz. Milchzuckerbouillon anreichert ohne jeden weiteren Zusatz. Auch hier soll Gasbildung auf Coli hindeuten. (Nach ihm sollen alle Fäulniserreger, wie Proteus vulgaris, Milchzucker nicht vergären.)

Die von Smith[4]) verwendete Methode besteht in der Beschickung mehrerer (gewöhnlich 10) Gärungskölbchen, enthaltend 1 proz. Dextrosebouillon, mit 0,1 bis 1 ccm Wasser; je nach dem Ursprung füllen sich in einem oder mehreren Kölbchen nach 3 bis 4 Tagen 40 bis 60% der geschlossenen Röhre mit Gas; ist die Reaktion stark sauer, die Vermehrung der Bazillen schwach und nach 4 Tagen schon beendet, so kann mann auf die Anwesenheit des Bac. coli schliefsen. Solche Röhrchen enthalten fast immer Reinkultur, wie die Plattenkultur aus dem Bodensatz zeigt. Nach Smith soll Bacterium cloacae in den Milchzuckerlösungen gleichfalls Gas bilden, während Gasbildung und saure Reaktion in der Dextrosebouillon für das Koliwachstum charakteristisch sein sollen.

1) Weifsenfeld, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 35, S. 80.

2) Petruschky und Pusch, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 43, S. 304.

3) Freudenreich, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 18, S. 104.

4) Smith, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 18, S. 494.

5) Lignières, Ref. aus Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, Bd. II, S. 402.

Das von Lignières[5]) empfohlene Verfahren ist folgendes: Einsaat der betreffenden Massen in filtriertes, sterilisiertes 3proz. Heuinfus. Nach 18—24stündigem Stehen bei Brüttemperatur hat sich in der Flüssigkeit Bacillus coli elektiv vermehrt und kann nun durch das Plattenverfahren rein gewonnen werden. Die durch Bacillus coli erzeugte leichte Säuerung scheint andere Spaltpilze minder gut aufkommen zu lassen. Später wurde Lignières' Methode von Kaiser[1]) verwendet.

Chick[2]) hat einfach mit dem ursprünglichen Material ohne Vorkultur Platten unter Verwendung von 1 ‰ Phenol enthaltendem Agar gegossen, welcher die übrigen Bakterien mehr oder weniger im Wachstum hemmte, nicht aber Bacillus coli.

Meine Versuche begann ich zunächst nach den oben beschriebenen, verschiedenen Verfahren. Es wurden mit vielen Methoden wiederholt nicht zufriedenstellende Resultate erzielt. Nachher untersuchte ich, in welchen Nährflüssigkeiten der Bacillus coli communis sich am besten vermehrt, um diese Nährflüssigkeit zum Anreicherungsverfahren zu verwenden. Ich brachte in 100 ccm verschiedene Nährflüssigkeiten $^1/_{100}$ Öse des Bacillus coli communis und stellte sie in den Brutschrank. Nach bestimmter Zeit wurden auf Agarplatten Aussaaten gemacht; das Resultat war folgendes:

Versuch I.

	1 ‰ Phenolbouillon		3 % Heuinfus		2 % Traubenzuckerbouillon	
	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität
Sofort . .	25 583	1,0	4 008	1,0	5 348	1,0
n. 5 Std.	707 100	27,7	4 868	1,2	183 200	34,9
n. 12 Std.	30 827 500	1 205,0	8 500	2,1	485 333	92,5
n. 24 Std.	287 020 000	11 219,2	650 000	162,2	2 450 000	466,9

1) Kaiser, Archiv f. Hygiene, Bd. 52, S. 121.

2) Chick, Ref. aus Hygienische Rundschau, Bd. 12, S. 647.

Versuch II.

	1 ‰ Phenolbouillon		3 % Heu infus		2 % Traubenzuckerbouillon	
	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität
Sofort . .	26 317	1,0	8 602	1,0	9 612	1,0
n. 5 Std.	837 650	31,8	9 433	1,1	334 666	34,8
n. 12 Std.	21 397 500	814,3	111 000	1,3	2 770 000	285,6
n. 24 Std.	194 800 000	7 364,1	783 333	92,1	42 276 667	4 397,3

Versuch III.

Sofort . .	27 002	1,0	18 968	1,0	23 122	1,0
n. 5 Std.	614 620	22,9	81 870	4,3	752 530	32,5
n. 12 Std.	32 400 000	1 199,9	1 836 300	96,9	41 560 000	1 797,4
n. 24 Std.	287 580 000	10 650,3	20 450 000	107,8	515 740 000	22 305,2

Versuch I.

	2,5 % Milchzuckerbouillon		5 % Milchzuckerbouillon		1 % Dextrosebouillon	
	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität	Anzahl der Kolonien in 1 ccm	Vermehrg.-Intensität
Sofort .	37 196	1,0	34 155	1,0	40 770	1,0
n. 5 Std.	33 483 350	900,2	3 665 280	110,2	3 402 000	83,3
n. 12 Std.	93 285 000	2 507,9	67 566 600	1 978,2	953 692 000	23 392,0
n. 24 Std.	748 820 000	20 132,0	7 188 750 000	210 474,3	11 758 580 000	288 385,6

Versuch II.

Sofort .	45 900	1,0	39 150	1,0	34 777	1,0
n. 5 Std.	6 189 750	134,9	2 136 380	54,6	—	—
n. 12 Std.	127 950 000	2 787,6	86 805 000	2 217,2	930 891 600	26 767,8
n. 24 Std.	808 380 000	17 611,7	3 746 250 000	95 689,7	3 746 250 000	107 725,2

Versuch III.

Sofort .	40 365	1,0	27 338	1,0	38 410	1,0
n. 5 Std.	7 101 000	175,9	2 762 070	101,0	3 898 630	115,0
n. 12 Std,	153 831 700	3 811,0	614 700 000	22 485,2	79 315 800	2 064,8
n. 24 Std	1 512 000 000	37 458,2	14 783 750 000	540 776,6	1 383 080 000	36 008,3

Die Durchschnitte der Vermehrungsintensität aus den oben beschriebenen, dreimal winderholten Untersuchungen sind folgende:

	1 ‰ Phenol-bouillon	3 % Heuinfus	2 % Trauben-zucker-bouillon	2,5 % Milch-zucker-bouillon	5 % Milch-zucker-bouillon	1 % Dextrose-bouillon
Sofort . . .	1	1	1	1	1	1
nach 5 Stdn.	28	2	34	403	89	99
» 12 »	1 037	33	727	3 036	8 893	17 408
» 24 »	9 744	444	9 058	25 067	282 314	144 039

Aus diesen Beobachtungen ersehen wir, dafs in der 5 proz. Milchzuckerbouillon am besten die Vermehrung des Bacillus coli communis eintritt; deshalb verwendete ich zur Anreicherung 5 proz. Milchzuckerbouillon und stellte folgende Untersuchung an:

1. Verschiedene steril abgemessene Wasserquanten (0,1—1,0 ccm) mit 10 ccm von 5 proz. Milchzuckerbouillon versetzt (bei Verwendung von mehr als 1 ccm Wasserprobe setzte ich diese zu 100 ccm 5 proz. Milchzuckerbouillon) wurden zur Anreicherung in den Brutschrank gestellt; von den nach 24 Stunden getrübten Proben wurden durch Ösenausstriche auf Agarplatten Aussaaten gemacht; der v. Drygalski-Conradische Nährboden ist sehr geeignet hierfür; es genügt aber auch gewöhnlicher Agar. Wenn die Plattenkulturen tatsächlich koliähnliche Keime ergeben hatten, wurden sie dennoch mit allen gebräuchlichen diagnostischen Methoden (d. h. nach Gram gefärbtes Präparat, Bewegung, Gelatineplatte, Gasbildung, Milchkoagulation, Indolbildung, Agarstrich, Kartoffelstrich, Gelatinestich, Bouillon, etc.) weiter untersucht.

2. War die Menge des zu untersuchenden Wassers zu grofs (über 1 l), so filtrierte ich zuerst das Wasser durch Chamberlands Tonfilter ab; hernach wurden die auf dem Filter zurückbleibenden Reste in 5 ccm sterilisierten Wassers gelöst, und sofort die gesamte Menge in die 5 proz. Milchzuckerbouillon (100 ccm) eingegossen.

Das mit dieser Methode erzielte Resultat war immer sehr zufriedenstellend. Die folgende Tabelle gibt eine klare Übersicht.

Nr. des Brunnens	Tiefe des Brunnens (von Erdoberfläche bis Wasserfläche) m	Entfernung vom Abort oder Grube m	Beschaffenheit des Wassers	Keimzahl pro ccm Wasser	Das Vorhandensein oder Fehlen des Bacillus coli comm. in verschiedenen Mengen der betreffenden Wasserproben.						
					in 0,1 ccm	in 0,5 ccm	in 1,0 ccm	in 5,0 ccm	in 10,0 ccm	in 100,0 ccm	in 2½ l
1	6,1	10,9	klar	182 125	+	+	+	+	+	+	+
2	6,4	3,6	»	125 417	—	+	+	+	+	+	+
3	4,5	2,8	»	44 550	+	+	+	+	+	+	+
4	7,3	12,8	»	41 175	+	+	+	+	+	+	+
5	8,2	7,2	»	63 042	+	+	+	+	+	+	+
6	5,5	5,4	»	22 478	—	+	±	+	+	+	+
7	8,3	5,4	»	63 450	+	+	+	+	+	+	+
8	5,5	10,9	»	83 150	+	+	+	+	+	+	+
9	4,5	5,4	etw. getrübt	104 324	—	+	+	+	+	+	+
10	5,5	4,5	klar	31 283	—	+	+	+	+	+	+
11	5,5	5,4	»	138 375	+	+	+	+	+	+	+
12	4,5	1,8	»	93 163	+	+	+	+	+	+	+
13	5,5	8,2	»	97 167	+	+	+	+	+	+	+
14	6,4	5,4	»	72 225	—	+	+	+	+	+	+
15	10,9	5,5	»	263 733	+	+	+	+	+	+	+
16	2,8	9,1	»	24 400	+	+	+	+	+	+	+
17	4,5	3,6	»	84 870	—	+	+	+	+	+	+
18	18,2	6,4	»	43 874	—	+	+	+	+	+	+
19	2,8	3,6	»	24 300	—	+	+	+	+	+	+
20	0,6	1,7	getrübt	68 850	+	+	+	+	+	+	+
21	22,1	3,6	etw. getrübt	47 250	+	+	+	+	+	+	+
22	3,6	3,6	klar	31 725	—	+	+	+	+	+	+
23	2,8	4,5	»	31 050	+	+	+	+	+	+	+
24	3,6	3,6	gelbl. getrübt	18 225	+	+	+	+	+	+	+
25	3,6	3,6	klar	1 933	—	—	+	+	+	+	+
26	2,8	2,8	»	2 572	—	+	—	+	+	+	+
27	3,6	4,5	»	57 375	—	+	+	+	+	+	+
28	4,5	4,5	»	35 100	+	+	+	+	+	+	+
29	5,7	9,1	»	35 910	+	+	+	+	+	+	+
30	4,2	7,3	»	33 075	—	—	—	+	+	+	+
31	5,5	2,8	»	68 225	+	—	—	+	+	+	+
32	2,7	7,3	»	24 875	+	+	+	+	+	+	+
33	5,5	3,6	getrübt	31 725	—	+	+	+	+	+	+
34	4,5	4,5	klar	45 115	+	+	+	+	+	+	+
35	6,4	5,5	»	4 117	—	+	+	+	+	+	+
36	1,7	1,5	»	10 800	+	+	+	+	+	+	+
37	5,5	1,7	»	63 450	+	+	+	+	+	+	+

Nr. des Brunnens	Tiefe des Brunnens (von Erdoberfläche bis Wasserfläche) m	Entfernung vom Abort oder Grube m	Beschaffenheit des Wassers	Keimzahl pro ccm Wasser	Das Vorhandensein oder Fehlen des Bacillus coli comm. in verschiedenen Mengen der betreffenden Wasserproben.						
					in 0,1 ccm	in 0,5 ccm	in 1,0 ccm	in 5,0 ccm	in 10,0 ccm	in 100,0 ccm	in $2^1/_2$ l
38	1,7	5,5	klar	3 680	+	+	+	+	+	+	+
39	2,8	1,7	»	4 520	—	+	+	+	+	+	+
40	8,2	7,3	»	31 050	—	+	+	+	+	+	+
41	4,5	5,5	»	112 700	—	+	+	+	+	+	+
42	5,4	7,0	»	31 050	+	—	+	+	—	+	+
43	1,7	1,7	»	35 775	+	+	+	+	+	+	+
44	3,6	3,6	wolkiggetrbt	86 063	+	+	—	+	+	+	+
45	3,6	3,6	klar	247 933	—	+	+	+	+	+	+
46	1,7	5,5	»	21 500	—	+	+	+	+	+	+
47	5,5	3,6	getrübt	70 200	+	—	+	+	+	+	+
48	5,5	1,7	klar	21 263	+	+	+	+	+	+	+
49	2,8	9,1	getrübt	76 950	+	+	+	+	+	+	+
50	3,6	4,5	»	699 763	—	+	+	+	+	+	+
51	3,6	7,3	klar	57 375	+	+	+	+	+	+	+
52	1,7	5,5	»	147 825	+	—	+	+	+	+	+
53	4,5	4,5	»	43 538	—	+	+	+	+	+	+
54	4,5	3,6	»	80 325	+	+	+	+	+	+	+
55	5,5	4,5	»	7 763	—	—	+	+	+	+	+
56	8,2	4,5	»	11 417	—	+	+	+	+	+	+
57	8,2	7,3	»	21 263	—	+	+	+	+	+	+
58	1,2	6,4	»	45 225	+	+	+	+	+	+	+
59	7,3	9,1	»	31 081	+	+	+	+	+	+	+
60	8,2	4,5	»	69 902	—	—	+	+	+	+	+
61	4,5	4,5	»	76 950	+	+	+	+	+	+	+
62	3,1	1,7	»	54 675	+	+	+	+	+	+	+
63	4,5	3,6	»	44 550	—	+	+	+	+	+	+
64	2,8	4,5	»	81 000	+	+	+	+	+	+	+
65	4,5	3,6	»	35 100	+	+	+	+	+	+	+
66	2,8	2,8	»	45 225	+	+	+	+	+	+	+
67	4,5	1,7	»	37 000	+	—	—	+	+	+	+
68	4,5	2,8	»	15 530	—	+	+	+	+	+	+
69	4,5	1,7	»	157 275	+	+	+	+	+	+	+
70	9,1	1,5	»	65 433	—	+	+	+	+	+	+
71	6,4	7,3	»	8 316	+	+	+	+	+	+	+
72	7,3	1,7	»	62 775	—	+	+	+	+	+	+
73	3,5	5,5	etw. getrübt	33 075	+	+	+	+	+	+	+
74	3,5	1,5	klar	32 400	+	+	+	+	+	+	+
75	1,7	5,5	»	32 288	+	+	+	+	+	+	+
76	7,3	7,3	»	2 397	+	+	+	+	+	+	+

Nr. des Brunnens	Tiefe des Brunnens (von Erdoberfläche bis Wasserfläche) m	Entfernung vom Abort oder Grube m	Beschaffenheit des Wassers	Keimzahl pro ccm Wasser	Das Vorhandensein oder Fehlen des Bacillus coli comm. in verschiedenen Mengen der betreffenden Wasserproben.						
					in 0,1 ccm	in 0,5 ccm	in 1,0 ccm	in 5,0 ccm	in 10,0 ccm	in 100,0 ccm	in 2½ l
77	9,1	9,1	klar	43 875	+	+	+	+	+	+	+
78	9,1	7,3	»	1 928	+	+	+	+	+	+	+
79	4,5	10,9	»	1 767	+	+	+	+	+	+	+
80	9,1	5,5	»	67	+	+	+	+	+	+	+
81	4,5	9,1	»	33 413	—	+	+	—	+	+	+
82	4,5	9,1	»	44 045	—	+	+	—	+	+	+
83	7,3	14,6	»	17 368	+	+	+	+	+	+	+
84	4,5	8,2	»	29 700	+	+	+	+	+	+	+
85	8,2	9,1	etw. getrübt	165 725	—	+	+	+	+	+	+
86	7,3	7,3	klar	48 600	—	+	+	+	+	+	+
87	5,5	3,6	»	10 800	—	—	—	+	+	+	+
88	8,2	7,3	»	963	+	+	+	+	+	+	+
89	9,1	3,6	»	50 625	—	+	—	+	+	+	+
90	3,6	5,5	»	3 295	—	—	+	+	+	+	+
91	10,0	7,3	»	18 925	—	+	+	+	+	+	+
92	5,5	8,2	»	527	—	—	—	—	—	+	+
93	6,4	4,5	»	27 653	+	—	+	+	+	+	+
94	5,5	3,6	»	12 488	+	+	+	—	—	+	+
95	6,4	10,0	»	71 100	—	+	+	+	+	+	+
96	14,6	3,6	etw. getrübt	41 178	+	+	+	+	+	+	+
97	9,9	6,6	klar	62 778	+	+	+	+	+	+	+
98	7,0	7,0	»	50 625	+	+	+	+	+	+	+
99	7,3	9,1	»	45 563	+	+	+	+	+	+	+
100	10,9	9,1	»	43 875	+	+	+	+	+	+	+
101	1,7	7,3	»	20 250	+	+	+	+	+	+	+
102	2,2	31,0	»	1 890	+	+	+	+	+	+	+
103	1,0	20,0	»	2 530	+	+	+	+	+	+	+
104	1,5	3,5	»	5 200	+	+	+	+	+	+	+
105	10,0	8,0	»	9 360	—	+	+	+	+	+	+
106	1,1	5,4	»	21 380	+	+	+	+	+	+	+
107	20,0	30,0	»	624	—	+	+	+	+	+	+
108	4,0	10,0	»	2 500	+	+	+	+	+	+	+

Aus dieser Tabelle können wir Folgendes ersehen:

1. Der Bacillus coli communis ist in allen Brunnenwässern nachweisbar, vorausgesetzt dafs man genügende Wassermengen, nämlich über 100 ccm zur Untersuchung ver-

wendet. Nimmt man dazu geringere Wassermengen, so ist dieser Bazillus nur noch in einem gröfseren oder geringeren Prozentsatz der Untersuchungen nachweisbar.

Dies zeigt die folgende kleine Tabelle:

Untersuchte Wassermenge in ccm	0,1	0,5	1,0	5,0
Angabe der positiven Resultate in Prozenten der Zahl d. Untersuchungen	61 %	88 %	92 %	96 %

2. Die Anzahl der im Brunnenwasser vorhandenen Keime steht in keinem Zusammenhang mit der leichteren oder schwierigeren Nachweisbarkeit des Bacillus coli communis in Brunnenwasser. So konnte man z. B. bei Brunnen Nr. 80, dessen Wasser in 1,0 ccm nur 67 Keime enthielt, schon in 0,1 ccm den Bacillus coli nachweisen, während im Brunnen Nr. 30 dessen Wasser in 1 ccm über 30000 Keime enthielt, erst in 5,0 ccm Wasser dieser Bazillus nachgewiesen werden konnte.

3. Schliefslich zeigt noch die Tabelle, dafs in ein und derselben Wasserprobe bei Verwendung gröfserer Mengen (0,5—1,0 ccm) der Kolibazillus nicht nachweisbar war, während man es in geringeren Mengen (0,1 ccm) fand (Brunnen Nr. 26, 31, 42, 44, 47, 52, 67, 81, 82, 89 und 94); offenbar war in solchem Brunnenwasser der Kolibazillus nur in relativ wenigen Exemplaren vorhanden. Man kann daher aus der Menge der nachweisbaren Kolibakterien nicht ohne weiteres einen Schlufs auf den Grad der Verunreinigung des Brunnenwassers mit Fäkalien ziehen.

Wir kommen daher zu folgendem Schlufsergebnis:

1. Der Bacillus coli communis ist in allen Brunnenwässern nachweisbar.
2. Aus der Anwesenheit des Bacillus coli communis in Brunnenwässern kann mann nicht ohne weiteres auf Verunreinigung des Brunnens mit Fäkalien schliefsen.

Untersuchungen über die Hämagglutination und ihre physikalischen Grundlagen

Von

Ludwig Hirschfeld cand. med.

aus Warschau

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.
Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Das Vorhandensein zahlreicher Schutzwirkungen gegen die verschiedensten Gifte und Bakterienarten im Serum normaler Tiere ist eine Tatsache, mit der jede Theorie über die Vorgänge der Antikörperbildung sich abfinden mufs. Wenn es anfangs schien, als ob jeder Schutzstoff der Ausdruck einer vielleicht unbeachteten Infektion wäre, so zwangen doch bald experimentell gewonnene Tatsachen zu einer anderen Auffassung: denn es fanden sich im Serum Antistoffe, die mit Substanzen reagierten, welche nie früher in den Organismus gelangt sein konnten (Hämagglutinine Cytolysine, etc.). Ehrlich fafste daher die normalen Antikörper als vom Serum aufgenommene Produkte des Zellstoffwechsels auf, welche zu den Stoffen, auf die sie wirken, eine nur zufällige Affinität besitzen, und betrachtete ihre Existenz als eine wesentliche Stütze seiner Ansicht, dafs die Antikörperbildung nur eine quantitative Steigerung physiologisch verlaufender Vorgänge bedeute.

Eine Vorbedingung dieser Anschauung ist jedoch, dafs die normalen Antistoffe in der gleichen Weise spezifisch auf ihre Substrate wirken, wie die künstlichen Immunkörper auf ihre Antigene. Wenn normale Sera nun auf die verschiedensten Bakterien, Blutkörperchen etc. einwirken, so darf es sich nicht um eine einheitliche Substanz handeln, welche alle diese Wirkungen

hervorruft, sondern die Erythrozyten jeder Spezies finden im Serum Antikörper, welche nur auf sie, nicht auf die gleichen Gebilde anderer Arten einwirken, die vielseitigen Leistungen normaler Sera führen daher zur Annahme einer grofsen Multiplizität der in ihnen enthaltenen Antikörper.

Diese Forderung der Theorie ist von verschiedenen Seiten experimentell geprüft und bestätigt worden, allerdings mit Gründen von verschiedener Beweiskraft.

Als wichtigstes Argument für die Vielheit der normalen Antikörper wurde die Erscheinung der spezifischen Absorption ins Feld geführt. Bordet[1]) konnte zeigen, dafs es gelingt, das Agglutinationsvermögen eines Serums für eine Bakterienart vollständig zu erschöpfen, ohne dafs die Agglutination anderer Bakterien dadurch irgendwie beeinflufst wird, — und die gleiche Beobachtung machte Malkoff bei den Hämagglutininen. Gegen die Deutung, dafs es sich bei diesem Phänomen um die Absorption von Partialagglutininen handelt, kamen jedoch Bordet selbst, sodann Landsteiner[2]) Bedenken. Nachdem es sich herausgestellt hatte, dafs selbst die nahestehendsten Bakterienarten durch die Immunitätsreaktionen unterschieden werden können, mufste das Vorhandensein unzähliger spezifischer Schutzstoffe gegen Gebilde, welche nie mit dem Organismus in Verbindung getreten waren, in höchstem Grade befremdlich erscheinen. Die genannten Autoren sprechen daher die Ansicht aus, dafs die Bakterien, bzw. Blutkörperchen, möglicher Weise einen oder wenige im Serum vorhandene wirksame Stoffe in der Weise beeinflussen, dafs sie nunmehr auf die gleiche Zellart nicht mehr einwirken könnten. Landsteiner[3]), der dieser Frage experimentell näher trat, änderte jedoch dann selbst seine Ansicht, nachdem es ihm gelungen war, von den zur Absorption benutzten Blutkörperchen das Agglutinin wieder abzuspalten. Allerdings wirkte das so gewonnene Agglutinin auch auf andere Blutarten, wenn auch stets

1) Annal. Pasteur 1899.

2) Münch. medizin. Wochenschr. 1902, Wiener klin. Wochenschr. 1902, Wiener klin. Rundschau 1902.

3) Landsteiner u. Reich, Zentralbl. f. Bakt. 1905.

schwächer. Landsteiner und Stürli[1]) bilden sich daher die Vorstellung, dafs im Serum einige wenige Agglutinine vorhanden seien, durch deren verschiedenartigste Kombinationen spezifische Wirkungen zustande kommen könnten. Es scheint mir jedoch, dafs auch diese Annahme nicht zu einer befriedigenden Erklärung der spezifischen Absorption führt.

Neuerdings wurde die Frage wieder aufgerollt durch die Entdeckung spezifischer antagonistischer Substanzen, welche Pfeifer und Friedberger[2]) im normalen Serum nach Ausfällung durch Bakterien beobachtet hatten. Während die Entdecker die Existenz im Serum präformierter Substanzen annahmen, verfochten Bail[3]) und Weil[4]) die Ansicht, dafs es sich um aus den Bakterienleibern stammende Hemmungsstoffe handele. Weitere Experimente, besonders von Sachs[5]), lassen sich jedoch mit dieser letzteren Ansicht schwer in Einklang bringen.

Bei der unbefriedigenden Lösung, welche die Frage der spezifischen Absorption bisher gefunden hat, können die übrigen Tatsachen, auf welche sich die Ansicht von der Multiplizität der normalen Antikörper stützt, eine erhöhte Bedeutung beanspruchen.

Als besonders schwerwiegend wird der Umstand angesehen, dafs in verschiedenen Seris die einzelnen Antistoffe in ungleichen Proportionen enthalten seien, ein Verhalten, das M. Neisser für mehrere Antitoxine nachwies. In bezug auf die Hämagglutinine, mit denen sich die folgende Arbeit beschäftigt, hat Lüdke[6]) neuerdings ähnliche Angaben gemacht, und aus seinen Beobachtungen den Schlufs gezogen, dafs die Agglutinine für verschiedene Blutarten in den einzelnen Seris, entsprechend der Theorie, in ganz regellosen Proportionen anzutreffen seien. Derartige Untersuchungen können für die vorliegende Frage nur dann verwandt werden, wenn die Blutkörperchen einer Spezies,

1) Wiener klin. Wochenschr. 1902, Wiener klin. Rundschau 1902.
2) Deutsche medizin. Wochenschr. 1905.
3) Archiv f. Hygiene 1905.
4) Archiv f. Hygiene 1905.
5) Deutsche med. Wochenschrift, 1905.
6) Zentralbl. f. Bakt. 1905, 1906.

auf welche die verschiedensten Sera einwirken, auch stets von ein und demselben Individuum stammen. Nur so ist es möglich, die aufserordentlich starken individuellen Differenzen in der Agglutinabilität der Blutkörperchen auszuschalten und überhaupt zu vergleichbaren Werten zu gelangen. Da dieser Faktor in der Arbeit Lüdkes nicht betont wird und nach dem Ergebnis meiner Untersuchungen nicht berücksichtigt sein kann, so werden damit auch die von Lüdke gezogenen Schlüsse hinfällig.

Überhaupt ist es nicht angängig, aus der Verdünnung, in der ein Serum noch agglutiniert, ohne weiteres Schlüsse auf die im Serum vorhandenen Agglutininmengen zu ziehen, ein oft begangener Fehler, der erst in letzter Zeit durch die Arbeiten über die Kolloidchemie und ihre Beziehungen zur Immunitätsforschung ins rechte Licht rückte. Wenn man nämlich die verschiedene Stärke der Agglutination der einzelnen Blutarten auf verschiedene Mengen der Agglutinine zurückführt, so übergeht man stillschweigend die Möglichkeit, dafs die Agglutinabilität der Blutkörperchen keine feststehende Gröfse ist. Man müfste erst die Variabilität dieser Gröfse ausschalten, bevor man irgendwelche Schlüsse über die Mengen der Normalagglutinine ziehen könnte. Mir scheint, dafs insbesondere beim Studium der Temperatureinwirkungen auf die Agglutinine infolge Nichtbeachtung dieses Faktors den Forschern bereits manche Irrtümer unterlaufen sind. So wird angenommen, dafs Tuberkulose und Pestagglutinine bei 56° inaktiv werden, und Pick[1]) fand Choleraagglutinin empfindlicher gegen hohe Temperatur, wie Typhusagglutinin. Nun ist bekannt, dafs diese Skala der Agglutinabilität der Bakterien entspricht (Nicoll und Trenell[2]). Ich halte es in diesem Falle nicht für ausgeschlossen, auch wenn ich speziell für diese Frage keine experimentellen Belege zu liefern vermag, dafs es sich einfach um den Ausdruck einer verschiedenen Agglutinabilität handelt, und dafs es unrichtig ist, hier eine verschiedene Empfindlichkeit der Agglutinine der Temperatur gegenüber an-

1) Hofmeisters Beiträge 1902.
2) Ann. Pasteur 1902.

zunehmen. Denn — nachdem das Agglutinin geschädigt ist, verliert es die Möglichkeit, die schlecht agglutinablen Tuberkelbazillen, nicht aber Cholera- und Typhus, zu agglutinieren. Erst nach der successiven Abschwächung des Serums gehen allmählich die Typhus- und Choleraagglutinine zugrunde, d. h. die eine Komponente wird allmählich unfähig, auch die labilen Bakterien zu fällen. Den gleichen Fehler begeht auch Lüdke, welcher beobachtete, dafs das Agglutinationsvermögen des Serums für die einzelnen Blutarten durch Erwärmen in ungleicher Weise leidet, und daraus den Schlufs zieht, dafs im normalen Serum eine Vielheit von Agglutininen von verschiedener Thermoresistenz vorhanden sei, — ein Verhalten, das, wie ich mich bemühen werde, zu beweisen, einzig und allein von der Agglutinabilität der betreffenden Blutarten abhängt.

Die Aufgabe der folgenden Untersuchungen soll es nun sein, zunächst einmal unter Berücksichtigung aller Kautelen an einem möglichst umfassenden Material die Agglutination der verschiedenen Blutarten durch normale Sera quantitativ zu verfolgen und damit die tatsächliche Frage zu entscheiden, ob die allgemein angenommene und für die Multiplizität der Normalagglutinine verwertete Regellosigkeit des quantitativen Verhaltens zu Recht besteht.

Die Prüfung dieser Frage schien um so interessanter, als Bürgi[1]) bereits in einer Arbeit aus dem hiesigen Institut bei der Bakterienagglutination eine bemerkenswerte Gesetzmäfsigkeit gefunden hatte. Ordnete er die verschiedenen Tiersera nach ihrem Agglutinationsvermögen für eine bestimmte Bakterienspezies, so fand er, dafs dieselbe Skala bei allen anderen untersuchten Bakterienarten wiederkehrte. Ganz ähnlich verhielten sich die Sera in ihrem Fällungsvermögen auf Mastixsuspensionen.

Wenn ich nun auf Anregung von Herrn Dr. Friedemann, dem ich auch an dieser Stelle für die Unterstützung und Leitung sowohl bei den Experimenten, wie bei den theoretischen Ausführungen meinen warmen Dank ausspreche, analoge Versuche an Blutkörperchen vornahm, so geschah es einmal, um ev. dem von Burgi

1) Archiv f. Hygiene 1907.

gefundenen Gesetz eine allgemeinere Gültigkeit zu verschaffen, sodann aber, weil die Blutkörperchen gegenüber Bakterien gewisse Vorteile bieten. Bei ihnen ist nämlich die Möglichkeit ausgeschlossen, dafs es sich um echte Immunagglutinine handelt, welche nach einer nicht beachteten Infektion auftreten, und zu den Normalagglutininen zugerechnet, die Übersicht stören könnten. Es ist allerdings eines zu berücksichtigen, was bei der Bakterienagglutination nicht in Betracht kommt: das ist die Artverwandtschaft der Tiere, welche Blut und Serum liefern. Indessen, wie wir sehen werden, ist sie nicht imstande, die sich hier ergebenden Regeln irgendwie zu benachteiligen.

Ganz besonders sind aber die Blutkörperchen geeignet zum Studium der einzelnen Faktoren, welche den Agglutinationseffekt beeinflussen. In dem II. Abschnitt dieser Arbeit werde ich daher versuchen, für einen dieser Faktoren, nämlich die Agglutinabilität oder Suspensionstabilität der verschiedenen Blutarten, durch besondere Methoden ein Mafs zu gewinnen und damit ihren Einflufs auf die quantitativen Resultate zu eruieren.

Tabelle I.

Schweineblut 5%.

Akt. Sera	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	NaCl
Huhn . .	v.	v.	v.	v.	unv.	unv.	wen.	Spur	Spur	0
Schwein .	unv.	unv.	0	0	0	0	0	0	0	0
Rind . .	›	›	wen.	Spur	Spürch.	0	0	0	0	0
Ziege . .	›	›	Spur	Spürch.	0	0	0	0	0	0
Kaninchen	›	›	›	›	0	0	0	0	0	0
Hund . .	›	›	›	›	0	0	0	0	0	0
Pferd . .	›	›	›	0	0	0	0	0	0	0
Hammel .	›	Spur	›	0	0	0	0	0	0	0
Meerschw.	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Bemerkung: v. = vollständig, f. v. = fast

Experimenteller Teil.

I. Teil. Fällung der Blutkörperchen durch normale Sera.

Ich untersuchte Sera von: Huhn, Schwein, Pferd, Hammel, Hund- Ziege, Kaninchen, Meerschweinchen und Rind, — und Blutkörperchen von denselben Tieren. Die Sera wurden bei 56° inaktiviert, in geometrischer Reihe mit 0,85 % NaCl verdünnt, die Blutkörperchen zweimal mit NaCl gewaschen. Die Untersuchung geschah makroskopisch, nachdem die Röhrchen zwei Stunden bei 37°, dann bis zum nächsten Tage im Eisschrank gestanden haben. Sämtliche Sera waren stets gleich alt, sämtliche Blutarten einer Reihe wurden mit demselben Serum behandelt. Die Blutkörperchen der gleichen Spezies stammten stets von demselben Tier und wurden an einem Tage gegen alle Sera austitriert. Es hat sich ein bemerkenswertes Resultat ergeben: auf den ersten Blick schien es, als ob tatsächlich die Menge der Agglutinine in einem Serum verschieden wäre, denn das untersuchte Serum ergab mir mit verschiedenen Blutarten verschiedene Agglutinationshöhen, an deren Spitze Kaninchen und Pferd, deren untere Grenze Rind und Ziege, die ganz inagglutinabel sind, einnahmen. Die weitere Untersuchung lehrte mich aber eines anderen: denn dieselbe Reihenfolge wiederholte sich bei jeder anderen Blutart.

Tabelle I.

Pferdeblut 5 %.

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	NaCl
v.	v.	v.	v.	unv.	unv.	unv.	Spur	Spur	0
»	»	»	f. v.	»	»	Spur	Spürch.	0	0
f. v.	f. v.	f. v.	unv.	»	»	»	0	0	0
»	»	»	»	Spur	Spur	»	0	0	0
unv.	wen.	Spur	Spur	»	»	0	0	0	0
»	unv.	»	»	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
f. v.	unv.	Spur	Spur	Spürch.	0	0	0	0	0
Spur	0	0	0	0	0	0	0	0	0

vollständig, unv. = unvollständig.

Hundeblut 5%.

Akt. Sera	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
Huhn . .	v.	v.	v.	unv.	unv.	wenig	Spur	Spürch.	0
Schwein .	f. v.	unv.	unv.	Spur	Spürch.	0	0	0	0
Rind . .	»	»	»	»	»	0	0	0	0
Ziege . .	»	»	Spur	0	0	0	0	0	0
Kaninchen	unv.	Spur	Spürch.	0	0	0	0	0	0
Hund . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pferd . .	unv.	Spur	Spur	0	0	0	0	0	0
Hammel .	»	»	0	0	0	0	0	0	0
Meerschw.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Meerschweinchen 5%.

Sera inakt.	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	NaCl
Huhn	f. v.	f. v.	unv.	wenig	Spur	Spur	0
Schwein	»	»	»	Spur	Spürch.	0	0
Rind	»	»	»	wenig	Spur	Spürch.	0
Ziege	»	wenig	Spur	Spürch.	0	0	0
Kaninchen . . .	Spur	Spürch.	0	0	0	0	0
Hund	unv.	Spur	0	0	0	0	0
Pferd	»	»	Spürch.	0	0	0	0
Hammel . . .	wenig	»	»	0	0	0	0
Meerschweinchen	0	0	0	0	0	0	0

Hammelblut 5%.

Sera inakt.	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	NaCl
Huhn	f. v.	unv.	Spur	0	0	0	0
Schwein	v.	v.	unv.	Spur	Spürchen	0	0
Rind	unv.	unv.	wenig	»	0	0	0
Ziege	0	0	0	0	0	0	0
Kaninchen . . .	Spur	Spur	0	0	0	0	0
Hund	wenig	Spürchen	0	0	0	0	0
Pferd	0	0	0	0	0	0	0
Hammel . . .	0	0	0	0	0	0	0
Meerschweinchen	0	0	0	0	0	0	0

Kaninchenblut 5%.

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	NaCl
v.	v.	v.	v.	f. v.	unv.	Spur	Spur	Spürch.	0
›	›	f. v.	unv.	Spur	Spur	0	0	0	0
›	›	v.	f. v.	unv.	›	Spürch.	0	0	0
›	›	f. v.	unv.	Spur	›	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	
unv.	Spur	Spur	?	0	0	0	0	0	0
f. v.	unv.	›	Spürch.	0	0	0	0	0	0
›	f. v.	unv.	Spur	0	0	0	0	0	0
unv.	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0

Hühnerblut 5%.

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
0	0	0	0	0	0	0	0	0
unv.	unv.	wenig	Spur	0	0	0	0	0
v.	v.	f. v.	unv.	Spur	Spürchen	0	0	0
unv.	Spur	Spur	Spürchen	0	0	0	0	0
f. v.	f. v.	unv.	Spur	0	0	0	0	0
Spur	Spürchen	0	0	0	0	0	0	0
›	›	0	0	0	0	0	0	0
wenig	Spur	Spürchen	0	0	0	0	0	0
0		0	0	0	0	0	0	0

Rinder- und Ziegenblut werden spurweise bloſs von Hühnerserum agglutiniert, sonst ist bei ihnen keine Spur von Agglutination zu beobachten.

Tabelle II.

Schweineblut 5 %. Mit unerhitzten Seris

Sera inakt.	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Huhn . .	v.	v.	v.	v.	unv.	unv.	unv.	Spur	Spürch.
Rind . .	unv.	unv.	wenig	Spur	Spürch.				
Pferd . .	v.	f. v.	»	»	»				
Ziege . .	unv.	unv.	Spur						
Hammel .	»	wen.	Spur	»					
Schwein .									
Hund . .	»	unv.	wenig	»					
Kaninchen	»	Spur	Spürch.						
Meerschw.	Spur								

Hundeblut 5 %. Unerhitzte Sera:

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	NaCl
Huhn . . .	f. v.	f. v.	v.	v.	unv.	unv.	Spur	0
Gans . . .	»	»	f. v.	unv.	»	Spur		0
Rind	»	unv.	unv.	»	Spur			0
Pferd . . .	unv.	Spur	Spürchen					0
Ziege . . .	»	unv.	Spur					0
Hammel . .	f. v.	»	wenig	Spur				0
Schwein . .	unv.	Spur	Spürchen					0
Hund . . .								0
Kaninchen .			Hymolyse					0
Meerschweinchen . . .			etwas Hämolyse					0

Kaninchenblut 5 %. Unerhitzte Sera:

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	NaCl
Huhn . . .	Häm.	Häm.	v.	v.	v.	unv.	unv.	Spur	Spur	0
Gans . . .	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	unv.	unv.	»	unv.	»	0
Rind	»	»	»	unv.	»	Spur	Spur			0
Pferd . . .	v.	v.	»	f. v.	wen.	»				0
Ziege . . .	f. v.	f. v.	»	unv.	unv.	»				0
Hammel . .	»	»	»	»	Spur	»				0
Schwein . .	v.	»	unv.	wen.	»					0
Hund . . .	unv.	unv.	»	Spur	»					0
Kaninchen .										0
Meerschweinchen . . .			0							0

Tabelle II.

Schweineblut 5%. Mit erhitzten Seris.

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
v.	v.	v.	f. v.	unv.	unv.	Spur	Spürchen	
unv.	unv.	wenig	Spur	Spürchen				
f. v.	»	»	»					
unv.*	unv.	Spur	Spürchen					
»	»	Spürchen						
»	unv.	wenig	Spur					
»	Spur	Spürchen						
Spur								

Hundeblut 5%. Erhitzte Sera:

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
v.	v.	f. v.	f. v.	unv.	Spur			
»	»	»	unv.	»	»			
f. v.	f. v.	unv.	Spur	Spürchen				
unv.	Spur	Spürchen						
»	»	Spur						
»	»	»	»					
»	»	»						
Spur								
0								

Kaninchenblut 5%. Erhitzte Sera:

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	NaCl
v.	v.	v.	f. v.	f. v.	f. v.	unv.	unv.	Spur	
»	»	»	v.	v.	»	»	Spur		
»	f. v.	f. v.	unv.	wenig	Spur				
»	v.	v.	»	Spur					
f. v.	f. v.	unv.	»	unv.	»				
v.	unv.	»	»	Spur					
»	f. v.	»	wenig	?					
unv.	unv.	»	Spur						
Spur									

Pferdeblut. Unerhitzte Sera:

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	NaCl
Huhn . . .	unv.	unv.	unv.	Spur	Spur	Spur	Spürch. (etw. Hämolyse)			
Gans . . .	»	Spur	Spur	»	(ist etwas Hämolyse aufgetreten)					
Rind	»	unv.	unv.	unv.	Spur	Spur				
Pferd . . .										
Ziege . . .	f. v.	»	»	Spur	»					
Hammel . .	»	»	»	»	»	?				
Schwein . .	Spur	Spur	Spur							
Hund . . .	»	»								
Kaninchen .	»	»								
Meerschweinchen . . .		0								

Meerschweinchenblut 5%. Unerhitzte Sera:

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
Huhn . . .	unv.	unv.	wenig	Spur	Spur	Spur	(etw. Hämolyse)		
Gans . . .	»	Spur	Spur	»	(etwas Hämolyse)				
Rind	»	unv.	»	»	»	(etwas Hämolyse)			
Pferd . . .	v.	f. v.	unv.	»	»				
Ziege . . .	unv.	unv.	Spur	»	Spürch.				
Hammel . .	Spur	Spur	»	»	Spur		»	»	
Schwein . .	»	»	»	»	»		»	»	
Hund . . .	»	»	»	»	»		»	»	
Kaninchen .	Hämolyse								
Meerschwein.									

Bemerkung: Die eingetretene Hämolyse setzte

Hühnerblut 5%. Unerhitzte Sera:

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Huhn . . .									
Gans . . .									
Rind	Spur	wen.	unv.	unv.	unv.	Spur	Spur	Spürch.	{ (unreg. Hämol.
Pferd . . .	f. v.	unv.	Spur						
Ziege . . .	Hämolyse								
Hammel . .	f. v.	f. v.	unv.	wen.	Spur				
Schwein . .	Hämolyse								
Hund . . .	»								
Kaninchen .	»								
Meerschwein.			0						

Pferdeblut. Erhitzte Sera:

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
f. v.	unv.	unv.	wenig	Spur	Spürchen	Spürchen		0
»	»	»	Spur	»	·			0
»	»	»	»	»	»			0
»	»	»	Spur	»	»			0
unv.	»	Spur	»	Spürchen				0
Spur	Spur							0
»	»							0
»	Spürchen							0
0	0							0

Meerschweinchenblut 5%. Erhitzte Sera:

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
f. v.	unv.	unv.	Spur	Spur	Spürchen			0
»	»	»	»	Spürchen				0
»	f. v.	wenig	»	»				0
v.	»	unv.	»	Spur				0
unv.	unv.	Spur	»					0
»	wenig	»	Spürchen					0
f. v.	unv.	»	»					0
Spur	Spur	Spürchen						0
»	»	»						0
								0

bei unerhitzten Seris den Titer stark herab.

Hühnerblut 5%. Erhitzte Sera:

1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	NaCl
								0
wenig	Spur							0
f. v.	f. v.	f. v.	unv.	wenig	Spur	Spürchen		0
unv.	unv.	Spuren						0
wenig	Spur	Spürchen						0
unv.	unv.	unv.	Spuren					0
»	»	Spur						0
wenig	Spur	Spürchen						0
Spur	Spürchen							0
	0							0

(Die letzten zwei Tabellen haben durch das Eintreten der Hämolyse an Übersichtlichkeit verloren. Hammelblut ergab sehr geringe Agglutination, Rind- und Ziegenblut keine. Auf den Unterschied zwischen erhitzten und unerhitzten Seris werde ich später einzugehen haben.)

Wenn ich in einer Tabelle noch alles im Zusammenhang fassen kann, indem ich in senkrechter Richtung die Sera, in wagrechter die Blutarten schreibe und in dem Kreuzungspunkte die letzte Verdünnung, bei welcher noch »Spur« zu sehen ist, so ergibt sich folgendes Bild:

Sera	Pferd	Kaninchen	Schwein	Huhn	Hund	Meerschweinchen	Hammel	Ziege	Rind
Huhn . .	256	128	256	—	64	32	4	1	1
Schwein .	64	32	—	8	8	8	8	0	0
Rind . .	64	32	8	16	8	8	8	0	0
Ziege . .	64	32	4	4	4	4	0	0	0
Kaninchen	32	—	4	8	2	1	2	0	0
Hammel .	8	8	4	2	2	2	—	0	0
Hund . .	8	4	4	1	—	2	1	0	0
Pferd . .	—	4	4	1	2	2	0	0	0
Meerschw.	1	2	1	0	0	0	0	0	0

Diese Tabelle bringt die ganze Bedeutung der früheren Tabellen zum Vorschein, — denn sie besagt, dafs die Agglutination der Blutkörperchen durch Normalsera mit geringen Ausnahmen eine Funktion zweier unabhängiger Gröfsen ist: der Agglutinabilität der Blutkörperchen, die sämtlichen Seris gegenüber auf gleiche Weise in Erscheinung tritt, und der agglutinierenden Kraft des Serums, die sich, ebenfalls unabhängig, sämtlichen Blutarten gegenüber gleich offenbart.

Und da man solche Funktionen, die unabhängig von ihren Komponenten in Erscheinung treten, im allgemeinen als additiv bezeichnet, so möchte ich der Kürze halber diesen Befund auch so formulieren, dafs die Agglutinationshöhe als additive Eigenschaft der Serumstärke und der Agglutinabilität der Erythrozyten anzusehen ist.

Dieselbe Reihenfolge der Sera und der Blutarten bekam ich auch in zahlreichen anderen Versuchen; — doch begegneten mir auch

ab und zu Ausnahmen, z. B. Schweineserum, das sehr schwach war, oder Meerschweinchenblut, das sich äufserst gut agglutinieren liefs etc. — die weitere Untersuchung dieser Abweichung führte jedoch zu einer wertvollen Bestätigung der obigen Annahme, denn es zeigte sich, dafs dann das Serum auch allen anderen Blutarten gegenüber an Stärke eingebüfst hat, so dafs die Regelmäfsigkeit in bezug auf Abstufungen der Agglutininstärke erhalten war. Man könnte die verschiedene Agglutinabilität als Ausdruck der verschiedenen Agglutininmengen im Serum auffassen, also annehmen, dafs z. B. Rind bei sämtlichen Seris keine oder blofs geringe Rezeptoren findet, Pferdeblut dagegen viele etc. Zum Teil könnte vielleicht die Annahme gestützt werden durch die Beobachtung, dafs ein Kaninchenimmunserum, das das Rinderblut noch in Verdünnung 0,01 löste, es nicht zu agglutinieren vermag. Man würde also zu der Vorstellung geführt, dafs der Mangel an Normalagglutininen die Möglichkeit ausschliefst, Immunagglutinine hervorzurufen. Indessen wissen wir seit Morgenroth und Sachs[1]), dafs die Präexistenz der Normalambozeptoren im Serum keine notwendige Vorbedingung zur Entstehung von Immunambozeptoren ist (»sessile Rezeptoren«). Es erschien auch unwahrscheinlich, dafs das Blutkörperchen, das mit Serum ja sicher in Wechselbeziehung tritt (wie die Tatsache der Normalhämolyse beweist), keine agglutinierenden Rezeptoren finden sollte. Wir wissen, mit welch enormer Zahl von Stoffen das Serum reagieren kann, und nun sollte es einem so komplizierten Komplex gegenüber, wie es ein Blutkörperchen ist, versagen? Offenbar hängt das nicht mit den Serumagglutininen zusammen, deren Zahl und Affinität in diesem Falle gleichgültig sind, sondern einzig und allein von der Stabilität der Blutkörperchenaufschwemmung.

Dafs es sich tatsächlich nicht um eine verschiedene Empfindlichkeit der Agglutinine der Temperatur gegenüber handelt, wodurch bei dem gleichen Prozefs der Inaktivierung (56°) die Sera verschieden stark beeinflufst wurden, bewiesen mir Parallelversuche mit unerhitzten Seris. Um Hämolyse zu vermeiden, benutzte ich blofs

1) Berl. klin. Wochenschr. 1902.

abgekühlte Lösungen und stellte die Röhrchen gleich in den Eisschrank. Im grofsen und ganzen sind die Werte dieselben geblieben, auch wenn die Übersicht manchmal gestört ist: die Hämolyse, die manchmal auftritt, wirkt der Agglutination entgegen, ein Verhalten, das bereits von Lüdke[1]) beobachtet und auf Verkürzung der Reaktionszeit sowie stärkere Affizierung der angegriffenen Zellen durch vollkommenes Zumausdruckkommen des lösenden Agens zurückgeführt wurde.

Durch diese Beobachtung kann man auch manches erklären, was auf Multiplizität der Normalagglutinine und ihre verschiedene Empfindlichkeit der Temperatur gegenüber hinzudeuten schien. Ich greife nur einige Beobachtungen von Lüdke heraus: z. B. soll beim Meerschweinchen das Agglutinin durch Erhitzen verschwinden, Meerschweinchenagglutinin wird also als empfindlicher angesprochen wie z. B. Pferdeagglutinin. In Wirklichkeit handelt es sich blofs um Quantitätsdifferenzen: das kraftlose Meerschweinchenserum wird durch die geringste Abnahme seiner agglutinierenden Kraft stark geschädigt, eine Abnahme, die bei dem stärkeren Pferdeserum gar nicht zum Ausdruck kommen kann. Es handelt sich nicht um die Unterschiede in der absoluten Zahl der zerstörten Agglutininmengen, sondern um Effekt einer gleichen Abnahme der Agglutinationskraft, — der je nach der ursprünglichen Stärke verschieden ausfallen mufs. — Selbstverständlich liegt die Möglichkeit der verschiedenen Empfindlichkeit vor: sie ist aber durch Lüdkes Experimente nicht im geringsten erwiesen. Oder z. B. Agglutinin für Hammelblut soll empfindlich sein. Die Agglutinationsstärke können wir blofs in ihrer Funktion erkennen; diese Funktion ist allerdings gehemmt, als hauptsächlicher Faktor ist aber die Stabilität der Hammelerythrozyten anzusprechen, durch welche die geringste Abnahme der Serumstärke schwerer ins Gewicht fällt, wie bei einer gut agglutinablen Blutart. [Lüdke konnte ebenfalls die Beobachtung machen, dafs Rinderblut (weniger Hammelblut) sich auch gegen Immunsera sehr refraktär erweisen.]

Ich möchte erwähnen, dafs die unerhitzten Sera das Rinderblut spürchenweise agglutinieren. Ich kann dem aber nicht die Bedeutung beimessen, dafs Agglutinin gegen Rinderblut labiler ist wie andere: denn 1. ist die genaue Beobachtung durch Hämolyse gestört, 2. auch bei anderen Seris verschieben sich etwas die Werte, mal zugunsten, mal zuungunsten der inaktivierten, 3. für das gleiche Abfallen der Agglutininmengen ist das schlecht agglutinable Blut ein viel feineres Reagens, als das gut agglutinable — ebenso wie an einem schwachen Meerschweinchenserum

1) a. a. O.

die Erhitzung scheinbar viel gröſsere Spuren hinterläſst wie an einem starken.

Mit der Agglutinabilität der Blutart bzw. mit der Stärke eines Serums verknüpft sich innig ein dritter Faktor: die Zeit. Je ausgesprochener die oben erwähnten Eigenschaften sind, um so schneller sieht man das Agglutinationsmaximum. Das scheint nicht ohne Bedeutung für die Erklärung eines Versuches, den mit Immunserum bereits Bordet angestellt hat. Nimmt man zwei verschieden agglutinable Blutarten, z. B. Pferd (gut) und Huhn (mäſsig), mischt und setzt man dann Serum hinzu, so kann man sehr schön mikroskopisch verfolgen, wie die runden Pferdeerythrozyten zueinander wandern und bloſs miteinander verkleben: eine Vermischung findet nicht statt, die Hühnererythrozyten reagieren ebenfalls bloſs miteinander. Indessen, nach dem früher Gesagten ist das Pferdeblut nicht bloſs besser, sondern auch schneller agglutinabel — mit anderen Worten ist das bei dieser Versuchsanordnung die bloſse Wiederholung des Malkoffschen[1]) Absorptionsversuches. Um die Blutkörperchen gleichzeitig dem Einfluſs des Agglutinins auszusetzen, muſs man ungefähr gleich gut agglutinable Blutarten nehmen. In der Tat zeigen Huhn (mäſsig) und Meerschweinchen (mäſsig) bei weitem nicht die hochgradige Spezifität: wenn auch die Haufen der Hauptsache nach von Erythrozyten einer Art gebildet werden, so sieht man doch zahlreiche Stellen, wo die ovalen Hühnererythrozyten sich den runden von Meerschweinchen und umgekehrt anlagern. Selbstverständlich läſst dieser Versuch eine doppelte Deutung zu — man kann ihn im Sinne eine Rezeptorenverwandtschaft interpretieren — es ist aber ebenso möglich, daſs er Ausdruck der noch nicht ausgebildeten Spezifität ist, ein Verhalten, das gegen die Präexistenz der vielen Normalagglutinine sprechen würde.

Nachdem es sich herausgestellt hat, daſs die verschiedenen Blutarten gegenüber sämtlichen Seris dieselbe Skala in bezug auf die Agglutinabilität aufweisen, war es nun von gröſstem Interesse,

1) Deutsche med. Wochenschr. 1900.

2) Diese Beobachtung bezieht sich ausschlieſslich auf Normalagglutinin.

zu untersuchen, inwieweit dieses Verhalten auch gegenüber anderen agglutinierenden Substanzen zum Ausdruck kommt. Aus theoretischen Gründen schienen mir die Untersuchungen der Phytotoxine, von denen mir das Abrin zur Verfügung stand, ein besonderes Interesse zu bieten. Denn bekanntlich wird im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie die verschiedene Empfindlichkeit der Blutarten gegenüber diesen Blutgiften als ein Kriterium für das Vorhandensein spezifischer Rezeptoren angesehen. In der Tat konnte Sachs[1]) zeigen, dafs beim Spinnengift die Empfindlichkeit und das Bindungsvermögen parallel geht. Wenn es sich daher herausstellen sollte, dafs die Empfindlichkeitsskala gegenüber Abrin identisch ist mit der gegenüber Serumagglutininen, so würde dieses Resultat zu dem theoretisch wichtigen Schlufs führen, dafs entweder beim Abrin die Bindungsfähigkeit der Blutarten mit der Agglutinabilität in keinem Zusammenhang steht, oder aber dafs die bindenden Faktoren der Blutkörperchen für Serumagglutinine und für Abrin identisch sind. Der Versuch ergab nur in der Tat, dafs die Reihenfolge der Blutarten fast genau dieselbe geblieben ist wie bei Serumagglutination.[2])

Abrin.

Blutarten	1	$^1/_2$	$^1/_4$	$^1/_8$	$^1/_{16}$	$^1/_{32}$	$^1/_{64}$
Hund	v.	f. v.	f. v.	f. v.	wen.	wen. od. Sp.	Sp.
Kaninchen . .	f. v.	f. v.	unv.	unv.	unv.	Sp.	0
Pferd	v.	f. v.	unv.	wen.	Sp.	0	0
Huhn	f. v.	unv.	unv.	unv.	Sp.	0	0
Meerschwein .	f. v.	f. v.	unv.	Sp.	Sp.	0	0
Schwein . . .	v.	f. v.	unv.	Sp.	0	0	0
Hammel . . .	Sp.	Spürch.	0	0	0	0	0
Rind	Spürch.	0	0	0	0	0	0
Ziege . , . .	0	0	0	0	0	0	0

Die Kontrolle mit Schweineserum ergibt dieselbe Reihenfolge mit einer kleinen Abweichung bei Hundeblut, das bei Serum nicht die Polstellung einnimmt.

1) Hofmeisters Beiträge.

2) Hellin (Inaug.-Diss. Rostock 1901) hält das Pferde- und Hundeblut als am meisten gegen Abrin empfindlich. Kaninchen und Rind sollen sich mehr refraktär erhalten. Wie gesagt, kann ich das blofs teilweise bestätigen.

Versuche über die verschiedene Bindungsfähigkeit für Abrin habe ich nicht angestellt, da diese Frage mit dem von mir anfänglich gestellten Problem in keinem direkten Zusammenhang steht. Sollte sich aber die Bindungsfähigkeit der Agglutinabilität parallel erweisen, so würde das zu Schlüssen von ganz grofser Tragweite über die Bildung von Antikörpern führen. Da die immunisatorisch erzeugten Antikörper streng spezifisch und also das Antibrin unmöglich mit dem etwaigen Anti-Serumagglutinin identisch sein könnte, so würde der gemeinsame Angriffspunkt des Abrins und Serumagglutinins am Blutkörperchen dafür sprechen, dafs das Antitoxin nicht mit dem Rezeptor, der nach Ehrlich die Bindung des Toxins vermittelt, identisch sein könnte. Ich habe auch einige Versuche angestellt, um experimentell zu eruieren, ob in der Tat der Angriffspunkt des Abrin und Serumagglutinins am Blutkörperchen gemeinsam ist. Ich ging dabei so vor, dafs ich schlecht agglutinierende Sera in nicht mehr wirksamer Konzentration auf die Blutkörperchen einwirken liefs, die Zwischenflüssigkeit durch Zentrifugieren entfernte und nun untersuchte, ob die Agglutinabilität gegenüber Abrin im Vergleich zu unbehandelten Blutkörperchen herabgesetzt ist. Die Resultate dieser Untersuchungen waren nicht so eindeutig, dafs ich bei Bedeutung dieser Frage irgend welche Schlüsse ziehen könnte. Ich behalte mir deshalb vor, im anderen Zusammenhang auf dieses Thema zurückzukommen.

II. Teil.

Fällung der Blutkörperchen durch Kolloide und Salze.

Im ersten Teil dieser Arbeit habe ich feststellen können, dafs die normale Agglutination der Blutkörperchen als additive Gröfse der zwei hier wirkenden Komponenten zu betrachten ist, d. h. je labiler die Blutkörperchenaufschwemmung, je stärker das Serum, um so höher steigt die Agglutination; mit anderen Worten: dafs die verschieden starken Agglutinate eines Serums mit vielen Blutarten nicht als Beweis einer Vielheit der Agglutinine in dem betreffenden Serum gelten können. Es war nun von besonderem Interesse zu untersuchen, ob die obengenannten Eigen-

schaften beider Komponenten sich nicht physikalisch-chemisch fixieren liefsen, ob man also nicht in dem komplizierten biologischen Vorgang Momente fände, die ihn der Willkür einer Zufallsaffinität entreifsen könnten. Der Gedanke lag um so näher, als es Bürgi gelungen ist, die Parallelität der fällenden Kraft des Serums gegenüber Bakterien und Mastix nachzuweisen, womit die Möglichkeit vielleicht gegeben ist, die Gesetze, die man in bezug auf fällende Kraft gegenüber Kolloiden eruiert hat, auf Serum anzuwenden, unbekümmert um die angenommene Vielheit der Agglutinine.

Es dürfte durch die Arbeiten der letzten Jahre wahrscheinlich geworden sein, dafs der Agglutinationsvorgang mit den Fällungen von Suspensionskolloiden in nahem Zusammenhang steht. Da diese von den elektrischen Eigenschaften der kolloidalen Stoffe abhängen, so bestand zunächst die Aufgabe, die Art der elektrischen Ladung der Blutkörperchen festzustellen. Zu diesem Zwecke untersuchten Landsteiner und Jagic[1]), sowie Henri[2]) und seine Schüler die Fällbarkeit der Erythrozyten durch Kolloide und konnten zeigen, dafs im Gegensatz zu unorganischen Suspensionen und Bakterien, welche zur Anode wandern und daher nur von elektropositiven Kolloiden gefällt wurden, die roten Blutkörperchen ein mehr amphoteres Verhalten zeigen, d. h. sowohl durch positive wie negative Kolloide ausgeflockt werden. Dementsprechend fand auch Höber bei der Kataphorese ein mehr kompliziertes Verhalten. Im allgemeinen wandern die roten Blutkörperchen, in Rohrzucker oder Neutralsalzen der Alkalien und Erdalkalien aufgeschwemmt, im Potentialgefälle zur Anode. Es gelingt aber aufserordentlich leicht, durch kleine Mengen von Säure, Kupfer-, Silber-, Eisen- und Aluminiumsalzen die Richtung der Kataphorese umzukehren. Ja Höber[3]) erzielte dies Resultat sogar bei CO_2 gesättigten Blutkörperchen schon durch Erhöhung der Salzkonzentration. Offenbar ist dies Verhalten auf den amphoteren Charakter der in den Blutkörper-

1) Münch. med. Wochenschr. 1904.

2) Compt. rend. de la société de biol. 1904.

3) Pflügers Archiv 1904. Höber, Physik. Chemie d. Zelle u. Gewebe. II. Auflage.

chen enthaltenen Eiweifskörper, vielleicht auch des Lezithins, zurückzuführen. Über die Fällbarkeit der Erythrozyten durch Salzlösungen, welche ja ebenfalls die Kolloide zu charakterisieren vermag, liegen systematische Untersuchungen bisher nicht vor. Nachdem ich so die Kolloideigenschaften der roten Blutkörperchen in grofsen Zügen als bekannt voraussetzen darf, schien es nun vor allem von Interesse, zu untersuchen, ob die verschiedenen Blutarten, welche den Serumagglutininen und dem Abrin gegenüber ein so ungleiches Verhalten an den Tag legten, auch eine verschiedene Suspensionsstabilität gegenüber Salzen und Kolloiden besitzen, und ob etwaige Unterschiede in derselben Richtung liegen. Zu einer derartigen Untersuchung ermutigten die schönen Versuche von Porges[1]), welcher einen Parallelgang zwischen der Agglutinabilität der Bakterien durch Sera und ihre Fällbarkeit durch konzentrierte Lösungen der Alkalisalze feststellte. Ich möchte jedoch ausdrücklich bemerken, dafs es vorläufig unberechtigt ist, diese Differenzen mit der Spezifität der Immunkörperreaktionen in Zusammenhang zu bringen. Wenn verschiedene Blutarten durch ein Toxin (z. B. Ricin) ungleich stark agglutiniert werden, so sind diese Unterschiede deswegen durchaus keine spezifischen. Den Begriff der Spezifität müssen wir auf jene Vorgänge beschränken, bei denen Wahlverwandtschaften zwischen den reagierenden Stoffen eine Rolle spielen, wie es bei den Reaktionen zwischen den Antikörpern und ihren Antigenen der Fall ist. Solche Vorgänge sind aber gerade dadurch ausgezeichnet, dafs ihr Verlauf nicht durch Eigenschaften bedingt ist, die an den Komponenten an sich haften, sondern ihnen nur in Wechselbeziehungen aufeinander zukommen. Die vorliegenden Untersuchungen sollen daher nicht die Spezifität der Immunitätsreaktionen erklären, sondern im Gegenteil zeigen, inwieweit nicht spezifische Faktoren dabei eine Rolle spielen. Landsteiner und Jagic[2]) entwickeln allerdings Vorstellungen, nach denen eine gegenseitige Beeinflussung von Kolloiden im Sinne einer spezifischen Wirkung möglich sein sollte. Diese

1) Zentralbl. f. Bakt. 1906.

2) a. a. O.

Autoren fassen nach dem Vorgange Billitzers[1]) die Kolloidteilchen als grofse Komplexe auf, welche Jonen abdissoziieren und daher selbst als Jonen betrachtet werden können. Die Immunkörper sind nach dieser Vorstellung Kolloide, welche gemäfs ihrem amphoteren Charakter H- und OH-Jonen aussenden können. Ein stark saueres Kolloid soll nun vermittelst der H-Jonen die Jonisierung eines schwächer saueren Kolloides beeinflussen können und damit dessen basischen Charakter verstärken. Es dürfte aber wohl schwierig sein, sich auf diesem Wege die Entstehung von Kolloidkombinationen vorzustellen, die in der gleichen ausschliefslichen Weise miteinander reagieren, wie Antikörper und Antigen.

Die folgenden Untersuchungen sollen zeigen, inwieweit die Reihenfolge der Agglutinabilität der verschiedenen Blutarten mit ihrem Verhalten gegen Kolloide und Salze in Zusammenhang steht.

Ich untersuchte die Fällung mit folgenden Kolloiden:

+ a) Ferrihydrat	— a) Arsentrisulfid
b) Chromhydroxyd	b) Molybdänsäure
	c) Kieselsäure.

Chromhydroxyd, Molybdänsäure, Kieselsäure wurden in salzfreiem und salzhaltigem Medium untersucht; Ferrihydrat und Arsentrisulfid blofs in salzfreiem. Wie das speziell von Landsteiner und Jagic[2]), Henri[3]), beim Blut beobachtet worden ist, sind positive und negative Kolloide wirksam. (S. Tab. S. 259.)

Tab. I. Ergebnis:

1. Kieselsäure fällt in salzhaltigem Medium sämtliche Blutkörperchen aus (s. Landsteiner und Jagic).
2. Zwischen der Agglutinabilität der Blutkörperchen durch Kieselsäure bestehen keine nennenswerten Unterschiede.

Beim Kaninchen finden wir eine geringe Hämolyse. Es kann sich selbstverständlich nicht um irgendwelche osmotischen

1) Zeitschr. f. physik. Chemie 1903.
2) u. 3) s. o.

Tabelle I. **Kieselsäure.** Blut in 0,85° Kochsalz suspendiert.

Blut 5 % von	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
Pferd . . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	nach 1 Std.
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	» 24 »
Kaninchen .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	» 1 »
	††† (et. H[1])	††† (e. H)	††† (e. H)	††† (e. H)	†††	†††	††	†	» 24 »
Schwein . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	
Meerschwein.	†††	†††	†††	†††	††	†	?		
	†††	†††	†††	†††	†††	††	††	†	
Hund . . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
	†††	†††	†††	†††	†††.	†††	†††	†	
Hammel . .	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	?	
	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	?	
Ziege . . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	
Rind . . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	

Störungen handeln: das Blut befindet sich in isotonischer Kochsalzlösung, und die zugesetzte hochmolekulare Kolloidlösung kann das unmöglich stark beeinflussen. Anderseits als Angriffspunkt dient ja die Plasmahaut der Blutkörperchen — und irgendwelche tiefere Zerstörung im Innern der Blutkörperchen sind ausgeschlossen. Es handelt sich wohl um eine geringe Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit des Blutkörperchens, wie das bereits Landsteiner und Jagic[1]) bei Kolloidblutfällung beobachtet und in diesem Sinne gedeutet haben, eine Herabsetzung, die auch nach Ehrlich[2]) beim Ricin stattfindet, wobei das Blutkörperchen bei nachträglichen kleinen Schädigungen, wie Aufschütteln (beim Protokollieren!) etwas Hämoglobin durchläfst. Die Tatsache, dafs beim Protokollieren nach einer Stunde noch keine Hämolyse und erst nach 24 Stunden eine solche deutlich zu sehen war, scheint mir eine Bestätigung der oben entwickelten Anschauung.

1) Etwas Hämolyse.

2) S. o.

3) Gesammelte Arbeiten über Immunitätsforschung, herausgegeben von Paul Ehrlich.

Die Reaktionsgeschwindigkeit ist sehr grofs: nach einigen Minuten ist die Fällung zum Stillstand gekommen. Wie man aus den Protokollen nach 24 Stunden ersieht, ist die Fällung blofs um eine Kleinigkeit gestiegen. (Eine geringe Ausnahme scheint Meerschweinchen zu sein.)

Tabelle II. **Molybdänsäure.**

(Blutkörperchenaufschwemmung und Verdünnungsflüssigkeit — 0,85° Na Cl.)

	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/156	1/512
Pferd	††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	
	††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	
Schwein	††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
	††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
Kaninchen . . .	††	††	†††	†††	†††	†††	††	††	†
	††	††	†††	†††	†††(eH)	†††	††	††	†
Meerschweinchen	††	†††	†††	†††	†††	††	†		
	††	†††	†††	†††	†††	†††	††		
Hund	††	††	†††	†††	†††	†††	†††	†	
	††	††	†††	†††	†††	†††	†††	?	
Hammel	††	††	†††	†††	†††	†††	††	?	
	††	††	†††	†††	†††	†††	††	?	
Ziege	††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
	††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?	
Rind	††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?
	††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	?

Tab. II. Ergebnis:

a) Molybdänsäure fällt in salzhaltiger Lösung alle Blutkörperchen (s. auch Landsteiner u. Jagic).

b) Es lassen sich dabei keine nennenswerten Unterschiede unter den Blutkörperchen beobachten.

c) Die Fällung geht sehr schnell vor sich (auch hier macht Meerschweinchen durch etwas längere Reaktionsdauer eine leichte Ausnahme).

Wie bei Kieselsäure, sind auch hier geringe Abweichungen vorhanden, z. B. Rind und Kaninchen etwas besser agglutinabel wie die übrigen Blutkörperchen. Inwieweit das auf die Suspensionsdichte zurückzuführen ist — oder als im Rahmen des Versuchsfehlers noch liegend zu betrachten ist — werde ich später auseinanderzusetzen haben.

Tabelle III. **Chromhydroxyd.**
(Aufschwemmungs- und Verdünnungsflüssigkeit — 0,85° Na Cl.)

5% Blut von:	1		
Pferd	† † †	†	?
	† † †	†	†
Kaninchen . .	† † †	† † †	†
	† † †	+ † †	+
Schwein . . .	†	†	
	†	†	
Meerschweinch.	† † †	†	?
	† † †	†	?
Hund	† + †	†	
	† † †	†	
Hammel . . .	† †	+ +	†
	† † (e H)	+ +	†
Ziege	+	†	?
	† †	†	?
Rind	† †	?	
	† †	±	

Tab. III. Ergebnis:

a) Chromhydroxyd fällt in salzhaltiger Lösung alle Blutkörperchen.

b) In bezug auf die Agglutinationshöhe sind zwischen den Blutkörperchen keine nennenswerten Unterschiede vorhanden. Was die Stärke der Agglutinaten anbelangt, so scheinen kleine Unterschiede zu bestehen.

c) Die Reaktionsgeschwindigkeit ist sehr grofs.

Gleichzeitig mit der Kolloidfällung unternommene Kontrolle mit Serum und Abrin ergab die Reihenfolge: Kaninchen, Hund, Schwein, Meerschweinchen, Pferd, Hammel, Ziege, Rind.

Die systematische Durcharbeitung der oben erwähnten Blutarten in einer salzfreien Lösung stöfst auf die Schwierigkeit: dafs nämlich manche Blutarten unter Einwirkung von Rohrzucker ausfallen. Dafs die Nonelektrolyte an und für sich fällen können, ist bekannt — es handelt sich meistens um Entziehung vom Lösungsmittel —, doch ist diese Frage keineswegs gelöst, und es kommen auch sicherlich andere Momente in Be-

tracht. Nach Billitzer[1]) kann die Potentialdifferenz des kolloidalen Platins gegen Wasser durch Alkoholzusatz geändert werden). Auch an Veränderung des spezifischen Gewichtes des Suspensionsmittels im Vergleich zu dem des Kolloids, an Verkleinerung der Viskosität, die den Gravitationskräften gröfseren Spielraum gibt, gelegentlich auch an die Bildung chemischer Verbindungen ist zu denken.

Bei der Fällung dachte ich zuerst, ob nicht vielleicht das Präparat mit kleinen Spuren von Säuren verunreinigt ist, aber auch nach der sorgfältigsten Neutralisierung blieb die fällende Kraft erhalten. So mufsten aus der Untersuchung das Rinderblut und Pferdeblut ausfallen. Einmal konnte ich Fällung mit Meerschweinchenblut beobachten, was um so merkwürdiger ist, da Meerschweinchenblut sich sonst im Rohrzucker gut aufschwemmen läfst. Es war das insofern für meine Zwecke gleichgültig, als die anderen Repräsentanten der gut und schlecht agglutinablen Blutarten, nämlich Kaninchen und Ziege, sich aufschwemmen liefsen, so dafs etwaige Differenzen zum Vorschein kommen mufsten.

Tabelle IV. **Ferrihydrat.**
(Aufschwemmungs- und Verdünnungsflüssigkeit — 10% Rohrzucker).

	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	
Kaninchen.	0	†††	†††	†††	†††	†††	††	†			nach 1 Std.
	?	†††	†††	†††	†††	†††	††	†			nach 24 Std.
Schwein.	0	?	†††	†††	†††	†††	††	†			nach 1 Std.
	0	?	†††	†††	†††	†††	††	†			nach 24 Std.
Hund .	0	†††	†††	†††	†††	†††	††	?			etc.
	0	†††	†††	†††	†††	†††	††	?			
Huhn .	0	0	?	†	†††	†††	†††	†††	†	†	
	0	0	?	†	†††	†††	†††	†††	†	†	
Meerschw. .	0	†††	†††	†††	†††	†††	††	0			
	†?	†††	†††	††† (e. H.)	††† (e. H.)	††	†	0			
Hammel	0	0	0	†††	†††	†††	†††	††	†		
	0	0	†	†††	†††	†††	†††	††	†		
Ziege .	0	†	†	†††	†††	†††	†††	††	†		
	0	†	†	†††	†††	†††	†††	††	†		

1) Zeitschr. f. physik. Chemie 1903.

Tab. IV. Ergebnis:

a) Ferrihydrat fällt alle untersuchten Blutarten (s. Landsteiner und Jagic, Henri).

b) Es lassen sich keine nennenswerten Unterschiede finden. Dem Unterschied zwischen Huhn und Meerschweinchen, der allerdings ein gröfserer ist, glaube ich, kann man keine Bedeutung beimessen wegen der unkontrollierbaren Beziehungen von Meerschweinchenblutkörperchen, die, wie erwähnt, manchmal ausfallen, zum Suspensionsmittel. Wahrscheinlich eine Oberflächenveränderung, nicht stark genug, um, wie in anderem Falle, Fällung zu bewirken, verändert hier die Bedingungen zuungunsten der Fällung. Sonst stehen die Hühner- und Meerschweinchenerythrozyten nahe zueinander. Sonst ergeben die anderen Blutarten und, was das Wichtigste ist, die beiden Pole — Ziege und Kaninchen — beinahe identische Werte.

c) Bei verschiedenen Blutarten lassen sich Hemmungszonen von verschiedener Breite beobachten. Ob die Breite der Hemmungszone mit der Aufschwemmungsdichte zusammenhängt, ist zweifelhaft: denn z. B. Schweineblut, das in bezug auf Suspensionsdichte in erster Linie steht, nimmt eine mittlere Stellung ein.

Tabelle V.	**Chromhydroxyd.**			**Arsentrisulfid.** (Aufschwemmungs- u. Verdünnungsflüssigkeit 10% Rohrz.	
	1	1/2	1/4	1	1/2
Kaninchen . .	†††	†		†	
	†††	†		†	
Meerschweinch.	†††	†		††	
	†††	†		††	
Huhn	†††	†††	†	†††	
	†††	†††	†	†††	
Hammel . . .	†††	††		†	
	†††	††		†	
Schwein . . .	††	†		†	
	††	†		†	
Ziege	†††	††	?	†††	
	†††	††	?	†††	

d) Die Reaktionsgeschwindigkeit ist sehr grofs. In den Verdünnungen $^1/_8$ und $^1/_{16}$ erscheint die Fällung beinahe sofort, bei den anderen Verdünnungen etwas später (Fällungsoptimum).

Tab. V. Ergebnis:

a) Das positive Chromhydroxyd wie negatives Arsentrisulfid fällen in salzfreiem Medium sämtliche untersuchten Blutarten.

b) Es lassen sich in bezug auf die Höhe der Agglutination zwischen den verschiedenen Blutkörperchen keine nennenswerten Unterschiede konstatieren.

Das Verhalten des Chromhydroxyds gegen Blut weicht insofern von Chromhydroxyd-Eiweifsfällung ab, als es durch den Salzzusatz nicht nennenswert verändert wird. Beim Eiweifs findet sich ein Heraufrücken der Fällungszone bei steigendem Salzzusatz (Friedemann)[1]).

Bei Kieselsäure und Molybdänsäure habe ich in salzfreier Lösung keine Wirkung erzielen können (mit Übereinstimmung von Landsteiner und Jagic, s. o.) Wenn man kieselsaure Eiweifsfällung hier zur Parallele nimmt, so mufs man in Betracht ziehen, dafs die Mengen von Eiweifs von grofser Bedeutung sind (Friedemann)[1]) in dem Sinne, dafs eine Verschiebung der Fällung bzw. Hemmungszone bei Salzzusatz auftritt, die von der angewandten Eiweifskonzentration abhängig sind. Ich lasse deshalb noch dahingestellt, ob man nicht durch Varieren der Dichte der Blutkörperchenaufschwemmung Mengenverhältnisse schaffen könnte, bei welchen auch Kieselsäure und Molybdänsäure auf Blut einzuwirken imstande wären. Bei Innehaltung derselben Mengenverhältnisse findet man aber keine nennenswerte Agglutination — abgesehen von Spürchen in ersten Röhrchen.

Wie man aus den Protokollen ersieht, besteht, abgesehen von kleinen Abweichungen, wie Chromhydroxyd, vielleicht Kieselsäure und Molybdänsäure, zwischen Eiweifs- und Blutkörperchenfällung starke Analogie.

Was aber für meine Zwecke am wichtigsten ist: die Kolloide bringen Unterschiede in der Agglutinabilität der Blutkörperchen

1) Archiv f. Hygiene 1906.

nicht zum Ausdruck. Und da nach früheren Auseinandersetzungen sich — theoretisch wenigstens — von einer fällenden Kraft des Serums reden läfst und man sie einer einheitlichen Betrachtung unterziehen kann, so folgt daraus, dafs das normale Agglutinin nicht wie ein unorganisches Kolloid wirken kann. Es ist das von prinzipieller Bedeutung: denn, wie ich das noch auseinandersetzen werde, teilen dies die Kolloide mit Schwermetallsalzen von niedriger Entladungsspannung, während umgekehrt die Salze mit hoher Entladungsspannung, soweit sie wirksam sind, die gröfsten Differenzen zum Vorschein bringen.

Zur Untersuchung gelangen folgende Salze: $(NH_4)_2$, SO_4, $BaCl_2$, $MgCl_2$, $CaCl_2$, $FeCl_3$, $Fe_2(NO_3)_6$, $Al_2(NO_3)_6$, $Zn(NO_3)_2$, $Pb(NO_3)_2$, $Cu(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2$, $Ni(NO_3)_2$, $Hg(NO_3)_2$ $HgCl_2$, $AgNO_3$. Untersucht wurde, soweit es ging, in physiologischer Kochsalzlösung; wo die Reaktion zwischen den beiden Salzen störend wurde, ist 10% Rohrzucker zur Verwendung gekommen. Es war allerdings — nach Untersuchungen von Pauli[1]) bei Eiweifsfällung — eine geringe Hemmung zu erwarten — indessen nimmt das Na-Jon in bezug auf die hemmende Kraft die letzte Stellung ein (nach Pauli)[1]). Es handelte sich bei meinen Untersuchungen um Unterschiede bei verschiedenen Blutarten, so dafs die gleiche Hemmung von seiten des Na-Jones die Differenzen kaum beträchtlich verwischen konnte.

Es sei vorweg gesagt, dafs ich mit $(NH_4)SO_4$, $BaCl_2$, $MgCl_2$, $CaCl_2$ keine Fällung erzielen konnte, wie das bereits bei Bakterien von Neifser und Friedemann[2]) sowie Bechhold[3]) in breitem Umfange nachgewiesen worden ist. Es kamen hier allerdings Konzentrationen in Verwendung, die noch nicht Eiweifsfällung erzielen konnten (Porges), und mit konzentrierten Lösungen gelang es Porges[4]), die Fällung zu bewirken. Bei den Blutkörperchen ist allerdings in der Empfindlichkeit derselben für allzu grofsen osmotischen Differenzen der Aufschwemmungs-

1) Hofmeisters Beiträge 1906.
2) Münch. med. Wochenschr. 1904.
3) Zeitschr. f. physik. Chemie 1904.
4) Zentralbl. f. Bakt. 1906.

flüssigkeit eine Schranke gesetzt — ich konnte jedoch sogar mit 2—3 normaler Lösung keine Fällung erzielen. Konzentrierte NH_4SO_4-Lösung fällt oft aus und reifst die Blutkörperchen mit sich. Dafs wohl blofs mechanische Momente in Betracht kommen, beweisen die sich dabei bildenden Kristalle.

Die Schwermetallsalze fällen dagegen die Blutkörperchen, und es sei mir gestattet, auf sie genauer einzugehen.

(Siehe Tabellen auf S. 267 u. 268.)

Ergebnis:

a) Die dreiwertigen Schwermetallsalze: $Fe_2(NO_3)$ und $Al_2(NO_3)_6$ fällen sämtliche untersuchten Blutarten.

b) In bezug auf die Agglutinabilität der Blutkörperchen lassen sich keine nennenswerten Unterschiede konstatieren.

Es ist dies Verhalten mit der enormen Stärke der dreiwertigen Salze zu erklären, die die Unterschiede in der Agglutinabilität der Blutkörperchen verwischt. Wie ich später auseinandersetzen werde, ist für das Hervorrufen der Differenzen bzw. Stärke der Fällung die Entladungsspannung mafsgebend: s. z. B. die einwertigen Neutralsalze fällen nicht, das einwertige Silber fällt sehr stark. Wo wir aber mit Jonen zu tun haben, die grofse Mengen Elektrizität mit sich führen, dort kommt der zweite Faktor (die Entladungsspannung) nicht zum Ausdruck.

Wie man aus den Protokollen ersieht, findet sich bei sämtlichen Reihen ungefähr in der Mitte eine Zone, wo nicht die Agglutination, sondern mehr oder weniger ausgesprochene Hämolyse auftritt.

Die Hämolyse kann auf dem Bestehen einer osmotischen Druckdifferenz beruhen, die sich allein durch Wasserbewegung, entgegen dem Konzentrationsgefälle der gelösten Stoffe, ausgleicht — die Bewegung der gelösten Stoffe in das Protoplasmainnere zwecks Ausgleichung der osmotischen Druckdifferenz ist ausgeschlossen, da die Blutkörperchen normaliter jonenundurchlässig sind. Je steiler das Konzentrationsgefälle, um so eher mufs die Hämolyse auftreten. Indessen bei konzentrierteren Lösungen bleibt die Hämolyse aus, ja, ihre Beziehung zu der mittleren Hemmungszone (wie z. B. bei Hammel) findet man nach einer

Tabelle VI. $Al_2(NO_3)_6$ 1/2 norm.

	1/4 n.	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8192	1/16384	1/32768	1/64000	
Kaninchen . .	0	0	0	0	0	?	?	†	††	††	†††	†††	†††	††	††	n. 1 Std.
	0	0	0	0	0	H.[1]	H.	H.	†††	†††	†††	†††	†††	††	††	n. 24 Std.
Pferd	0	0	0	†††	†††	†††H.	†††H.	†††H.	†††	†††	†††	†††	††			
	0	0	†	†††	†††	†††H	†††H.	†††H.	†††	†††	†††	†††	†††	†	†	
Schwein . . .				††	††	†††	†††	†††	††	††	††	†††	††	††		
				††	†††	†††H.	†††H	†††H.	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	
Hund . . .		†	†	†	†††	†† H.	†††H.	†††H.	†††	†††	†††	†††	†			
		†	†	††	†††	†† H.	†††H.	†† H.	†† H.	†††	†††	†††	††			
Meerschweinch.				† e. H.	H.	H.	H.	†† H.	†††	†††	†††	†††	††	†		
				† e. H.	H.	H.	H.	H.	† H.	†††	†††	†††	††	†		
Huhn	0	0	0	†	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	0	?	
	0	0	0	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†		
Ziege	0	0	0	0	†	†††	†††H.	H.	H.	H.	?	††	†			
				?	†	†††	†††H.	H.	H.	H.	0	††	†			
Rind	0	0	0	0	0	0	0	0	0	†††	†††	†††				
	0	0	0	0	0	0	†	†	†††	†††	†††	†††	†			

[1]) Haemolyse.

Tabelle VII. $Fe_2(NO_3)_6$ n.

	1/4 n	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8192	1/16384	1/32768	1/65000	
Kaninchen .	0	0	0	0	0	H	H.	H.	H.	?	†††	†††	††	?		nach 1 Std.
	0	0	0	0	0	H	H.	H.	H.	† H.	†††	†††	††	†		nach 24 Std.
Pferd . . .	†	†	†	††	†††	†† H.	† H.	† H.	† H	††	†††	†††	†††	†††	†	
	†	†	†	††	†††	†† H.	† H.	† H.	† H.	††	†††	†††	†††	†††	††	
Schwein . .	0	†	††	†††	†	0	H.	H.	H.	†	†††	†††	††	?		
	†	†	††	†††	†	0	H.	H.	H.	†	†††	†††	††	†	?	
Hund . . .	0	?	?	†	††	†† H	†† H	H.	H	††	†††	†††	†			
	†	†	†	†	††	†† H.	† H	H.	H.	H.	†††	†††	†			
Meerschw .	†	†	††	†††	e. H †	H.	H.	H.	††	†††	†††	†††	††	?		
	†	†	††	†††	† e H.	H.	H.	H.	H.	†††	†††	†††	††			
Hammel . .	†	†	†	††	†††	†††	0,	0	0	0	††	†††	††	†		
	†	†	†	††	†††	†	c. H.	H.	H.	H.	†††	†††	††	†		
Ziege . . .	0	0	0	†	†††	c. H.	H.	H.	H.	H.	†	††	†			
	††	†	†	†	†††	e. H.	H.	H.	H.	H.	††	††	†			
Rind . .	†	†	††	††	† c. H	† e. H.	†† c. H.	†† e. H.	†† e. H.	†††	†††	†††	††			
	†	†	††	††	† c H	† c H.	†† e. H.	† e. H.	H.	†††	†††	†††	††			

Stunde noch 0, nach 24 Stunden vollständige Hämolyse) ist unverkennbar. Die Unregelmäfsigkeit mit dreiwertigen Salzen haben bei Suspensionen bereits Bechhold, Neifser und Friedemann[1]) gesehen und sie als hemmende Funktion der kolloidalen Hydroxyde aufgefafst. Ob die Hämolyse in Analogie mit der geringen Hämolyse zu bringen ist, die Landsteiner und Jagic bei der Kolloidfällung manchmal gesehen haben, und die auch bei mir vorhanden ist, ist zweifelhaft. Dort handelt es sich wahrscheinlich um Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit des Erythrozyten durch Veränderung seiner Plasmahaut, hier, nach der von Neifser und Friedemann entwickelten Vorstellung wird das eine Kolloid durch das Schutzkolloid gewissermafsen umhüllt. Auch die vollständige Hämolyse ähnelt nicht der leicht roten Verfärbung bei Kolloid-Blutfällung. Es handelt sich um eigenartige Veränderung der Blutkörperchen in der Hemmungszone, deren Ursache und Wesen ich als ungelöst bezeichnen mufs. Erwähnen möchte ich nur, dafs Henri und Girard[2]) Mangin in den Hemmungszonen, bei Immunseris ebenfalls eine Hämolyse beobachten konnte. In bezug auf die Breiten der Hemmungszonen kann ich, wie bei Kolloiden, keine Parallelität mit den Aufschwemmungsdichten konstatieren.

(Siehe Tabelle auf S. 270.)

Tab. VIII. Ergebnis:

a) Kupfernitrat fällt alle untersuchten Blutarten. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist sehr grofs.

b) In der Agglutinabilität der Blutkörperchen lassen sich gewisse Unterschiede konstatieren. Die Reihenfolge der Blutkörperchen in bezug auf die Agglutinabilität lautet (nach 1 Stunde):

Huhn	$^1/_{160000}$	norm.
Kaninchen	$^1/_{80000}$	»
Hund	$^1/_{40000}$	»
Ziege	$^1/_{0000}$	»
Pferd	$^1/_{20000}$	»
Meerschweinchen . .	$^1/_{20000}$	»
Schwein	$^1/_{10000}$	»
Rind	$^1/_{2560}$	»
Hammel	$^1/_{1280}$	»

1) s. o. 2) a. a. O.

Tabelle VIII. $Cu(NO_3)_2$ norm.

	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240	1/20480	1/40000	1/80000	1/160000	
Kaninchen .	0	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+±	+			nach 1 Std.
	0	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++H	++H.	+H.	+H.	+	+		» 2 »
	0	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	++H	H.	H.	H.	H.	+	?	» 24 »
Pferd . . .	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++	?			
	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	+++	+++	+++	++	?			
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	++	?			
Schwein . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	?				
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	?				
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++H.	+H.	+H.	+H	++	+				
Huhn . . .	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+±	
	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	+±	
	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++H.	+H.	+H.	+H.	H.	H.	+H.	+	
Meerschweinchen	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	?			
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+H.	+++	+++	+++	+++	++	?			
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+H.	H.	H.	H.	H.	+	?			
Hund . . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+±			
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++H	+++H	+++H	++H.	+±			
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++H	++H.	++H.	H.	H.			
Hammel . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++±	++								
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++								
Ziege . . .		+	+	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+±	?			
		+	+++	+++	+++	++±	++	++	++	+++	+++	++·	+	?		
		+	+++	+++	++±	++±	++±	++±	++±	++	+H.	+H	+H.			
Rind . . .	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	?						
	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	?	?					
	+	+	+	+++	+++	+++	+++H.	+++H.	+H.	e.H.	0	0				

Die Reihenfolge stimmt blofs zum Teil mit der bei Serumfällung überein. Rind und Hammel nehmen auch hier eine niedrige Stellung ein, Ziege wird aber abnorm hoch agglutiniert. (Die Agglutination macht oft einer allmählichen Hämolyse Platz, s. o.) Was die Huhnerythrozyten anbelangt, so ist das eine regelmäfsige Erscheinung: sie werden von sämtlichen Salzen (Blei ausgenommen) hoch agglutiniert. Bei anderen verschiebt sich oft die Reihenfolge, wobei die Entladungsspannung eine gewisse Rolle zu spielen scheint. So werden z. B. Hammelerythrozyten stets von Pb, Ni, Cd sehr gut agglutiniert, während bei Cu (s. niedrige Entladungsspannung) und Zink (s. hohe Entladungsspannung) sie unten stehen.

Tabelle IX. $Pb(NO_3)_2$ norm.

	$^1/_{10}$	$^1/_{20}$	$^1/_{40}$	$^1/_{80}$	$^1/_{160}$	$^1/_{320}$	$^1/_{640}$	$^1/_{1280}$	$^1/_{2560}$	$^1/_{5120}$	
Kaninchen .	†††	†††	††	††	††	†					n. 1 Std.
	† H.	† H.	† H.	††	††	††	†	†	H.	H.	n. 24 Std.
Pferd . . .		†††	e. H.	e. H.	†	††	††	†	?		
		†††	H	H.	†	††	††	†	?	?	
Schwein . .	†††	†††	†††	†††	††	†					
	††H.	†††	†††	†††	†††	†	†	†	†		
Huhn . .	†††	†††	†††	†††	†††	†	?				
	†††	†††	†††	†††	†††	†	?				
Hund . . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	?	
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	?	
Meerschw.	†††	†††	†††	†††	††	†					
	† H.	† H.	†††	††	†	†					
Hammel . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†		
	††H.	††H.	††H.	††H.	†††	†††	†††	††	†		
Ziege . . .	†	†	†	†							
	† e. H.	† e H.	† e. H.	† H.	† H.						
Rind . . .	†††	†††	†††	†††							
	†††	†††	†††	†††	†	†	†				

Tab. IX. Ergebnis: In bezug auf die Agglutinabilität der Blutkörperchen bildet sich folgende Reihenfolge:

Hund	$^1/_{2560}$
Schwein	$^1/_{2560}$
Hammel	$^1/_{2560}$

Pferd	1/1280
Kaninchen	1/1280
Rind	1/640
Huhn	1/320
Meerschweinchen . . .	1/320
Ziege	1/160.

Die Differenzen zwischen den Blutkörperchen stimmen nicht mit denen zusammen, die Kupfer aufweist: so haben z. B. die Hühner in Hammelerythrozyten ihre Stellung vertauscht, indem jetzt Hammel an der Spitze steht. An und für sich aber sind die Differenzen in der Agglutinabilität unverkennbar. Die Hämolyse, wenn auch unregelmäfsig, greift auch hier Platz; worauf sie zurückzuführen ist, vermag ich nicht zu sagen.

Tabelle X. Ni $(NO_3)_2$ norm.

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256		
Kaninchen	†††	†††	††	†	†	†	†	† ±	††		nach 24 St.
Pferd . .	†††	†††	††	†††	††	†††	†††	†††	†††	††	
Schwein .	†††	††H.	††	†	†						
Meerschw.	†††	††H.									
Huhn . .	†††	†††	?	?	?	†	†	†			
Hund . .	†††	†††	?								
Hammel .	†††	†††	††±	††±	††±	††	††	†			
Ziege . .	†††	†	?								
Rind . .					†						

Tab. X. Ergebnis. Es bildet sich folgende Reihenfolge:

Pferd	1/512
Kaninchen	1/256
Hammel	1/128
Huhn	1/128
Schwein	1/16
Meerschweinchen . . .	1/2
Hund	1/2
Ziege	1/2
Rind	0.

Das angegebene Protokoll ist erst nach 24 Stunden aufgenommen. Nach einer, sogar nach 2 Stunden ist, abgesehen von

Hammel und Pferd, und Meerschweinchen, das Spürchen aufweist, noch nichts zu sehen. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist also äufserst träge. Bemerkenswert ist, dafs Rind nicht zu agglutinieren ist, Ziege äufserst wenig. Pferd und Kaninchen, wie beim Serum, stehen an der Spitze.

Tabelle XI. $\beta(NO_3)_2$ $Cd(NO_3)_2$ norm.

	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
Pferd . . .	†††	†	†±	†††	†††	†††	††		nach 2 Std.
	†††	††	†††	†††	†††	†††	††	?	nach 24 Std.
Schwein . .	† H.	†	††	††±	††	?			
	†††	† H.	†††	†††	†††	††	†	?	
Huhn . . .	†††	†	†††	†††	††	†	†	?	
	†††	†	†††	†††	†††	†††	†±	†	
Hund . . .	††±	†	†±	†±					
	††±	†	+	†	† H.	H.	H.	H.	
Meerschw. . .	† H.	H.	+	†	?				
	† H.	H.	+	†	†				
Hammel . .	†††	†††	†††	†††	†††	††	†		
	†††	†††	†††	†††	†††	††	†		
Ziege . . .	+	†	†±	††					
	++	+ H.	†††	†††	††	†			
Rind . . .			0						
	+	H.	?						

Tab. XI. Ergebnis:

Huhn	1/256	norm.
Pferd	1/28 ++	»
Schwein	1/128 +	»
Hammel	1/128 +	»
Ziege	1/32	»
Hund	1/32	»
Meerschweinchen . . .	1/32	»
Rind	1/2	»

Die Reaktionsgeschwindigkeit ist bedeutend gröfser als beim Nickel, jedoch bei weitem nicht so grofs wie bei Kolloiden und Salzen mit niedriger Entladungsspannung. Rind nimmt die letzte Stellung ein, Ziege rückt aber etwas nach oben. Hammel, wie ich bei Cu bereits erwähnt habe, zeigt sehr hohe Werte.

Tabelle XII. $Zn(NO_3)$ norm.

	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240	
Kaninchen .	†††	†††	††	††	††	††̲	††̲	††̲	†			nach 1 St.
	††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††̲	††̲	†	nach 21 St.
Pferd. . .	†	††	†††	†††	†††	†††	†††	†††̲	†			
	†	0 †̲	††	†††	†††	†††	†††	†††̲	††̲	?		
Schwein. .	†††	†††	†††	†††	†††	††̲	†					
	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	†	?			
Hund . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††̲	†					
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	††	†			
Huhn . .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††̲	††	†			
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††			
Meerschw. .	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	†	?			
	†††	†††	†††	†††	†††	†††	††	††	†			
Hammel .	†††	†††	†††	†††̲	†							
	†††	†††	†††	†††	††	††	†					
Ziege . .	††̲	†††	††̲	†	†							
	†	†††	†††	†††	††	††						
Rind . . .												

Ergebnis:

a) Zink fällt sämtliche Blutarten.

b) Es zeigen sich in der Agglutinabilität der Blutkörperchen Unterschiede, die mit denen bei Serum- und Abrinfällung fast identisch sind.

Abrin.

Reihenfolge:			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Kaninchen	1/10240	norm.	fv.	fv.	unv.	unv.	unv.	Sp.	?
Pferd	1/2560	»	v.	fv.	unv.	Sp.	Sp.	Spch.	
Huhn	1/2560	»	fv.	unv.	unv.	unv.	Sp.	?	
Hund	1/2560	»	v.	fv.	fv.	fv.	wen.	wen.	Spch.
Meerschw.	1/2560	»	fv.	fv.	unv.	Sp.	Sp.	Sp.	
Schwein	1/1280	»	v.	fv.	unv.	Sp.			
Hammel	1/640	»	Sp.	Spch.					
Ziege	1/320	»	?	?					
Rind	0	»	Spch.	?					

Die Übereinstimmung der beiden Werte, sowie der kolossale Unterschied bei Zinkfällung, wo Kaninchen mit $^1/_{10000}$ norm. noch gefällt wird, während für Rind $^1/_{10}$ sich als zu schwach erweist, ist eklatant. Speziell auf die Zinkfällung werde ich unten noch zurückzukommen haben.

Meine Protokolle mit $Ag\,NO_3$ werde ich nicht angeben: die Versuche mufsten mit Rohrzucker gemacht werden, so dafs sie mit den übrigen Protokollen schlechthin nicht vergleichbar sind. Ich will blofs erwähnen, dafs zwischen den Blutkörperchen keine nennenswerten Unterschiede zu verzeichnen waren.

Sehr interessant waren dafür die Versuche mit Quecksilber. Ich habe zuerst mit $Hg\,Cl_2$ gearbeitet, — und keine Spur von Agglutination, dafür reichliche Hämolyse bekommen. Es war das um so befremdender, als Hg Metall mit niedriger Entladungsspannung ist — und nach später zu besprechenden Regeln sind niedrige Entladungsspannung und fällende Kraft als reziproke Werte zu betrachten. Man weifs, dafs die Ionen in den Lösungsmitteln Äther und Fett nicht nebeneinander existenzfähig sind — und wenn sich ein Elektrolyt in ihnen auflöst, so lösen sich die undissoziierten Moleküle, und nicht die Ionen. Darum ist auch das negative Resultat mit $Hg\,Cl_2$ verständlich: Sublimat dringt, wie Pfeffer[1]) zuerst hervorhob, in das noch lebende Propoplasma ein, es ist fettlöslich — und dabei äufserst schwach dissoziiert. Einmal in das Blutkörperchen gelangt, kann es seine zerstörende Kraft entwickeln. Es war zu erwarten, dafs andere lipoidunlösliche, Quecksilbersalze, die also blofs die Plasmahaut anzugreifen imstande sind, sich anders verhalten werden.

In der Tat ist $Hg(NO_3)_2$ im Gegensatz zu Sublimat stark wirksam. Ich gebe die Protokolle nicht an, weil ich dabei nicht mit normalen Lösungen gearbeitet habe (bekanntlich fallen basische Salze aus, so dafs man sich keine normale Lösung herstellen kann. — Ich will erwähnen, dafs, wie bei Ag, die Unterschiede in der Agglutinabilität der Blutkörperchen gering waren). — Damit ist der starke Einflufs der Dissoziation und der Lipoid-

1) Osmotische Untersuchungen 1877. Vgl. auch Landsteiner und Eisler. Zentralbl. f. Bakt. 1905.

löslichkeit für das Phänomen der Blutfällung festgestellt. Erwähnen möchte ich nur, dafs Neifser und Friedemann[1]) bei Mastix die Unwirksamkeit von $HgCl_2$ ebenfalls gesehen haben.

Um den Einflufs des Anions zu studieren, nahm ich folgende Salze vor: Zn, SO_4, ZnJ_2, $ZnBr_2$, $ZnCl_2$, $Zn(CH_3COO)_2$, $Zn(NO_3)_2$. Bei sämtlichen Salzen bekam ich dieselben Fällungswerte. Eine kleine Ausnahme bildete das Azetat, insofern als bei derselben Agglutinationshöhe das Agglutinat schwächer war wie bei anderen Salzen. Man wird wohl nicht fehlgehen, dies der geringeren Dissoziation zuzuschreiben.

Da Untersuchungen über die Schwermetallfällung mit Blut meines Wissens im breiteren Umfange nicht vorliegen, so sei es mir gestattet, auf meine Protokolle im allgemeinen einzugehen.

Es ergeben sich hier folgende Momente:

1. Die Ausflockung der Erythrozyten durch die Salze der Schwermetalle ist lediglich abhängig von den Eigenschaften des Kations, unabhängig von denen des Anions.

2. Die Fällungskraft der Kationen steigt mit ihrer Wertigkeit. Damit ist der enorme Einflufs von Al und Fe erklärt.

3. Die Kationen fällen im allgemeinen um so stärker, je niedriger ihre Entladungsspannung ist. In der Tat wirkt Cu bei mir am stärksten, dann folgt Pb, Ni, Cd — eine Reihenfolge, die der der Entladungsspannung entspricht. (Abegg und Bodländer.) Die einzige Ausnahme macht bei mir Zink, das trotz der höchsten Entladungsspannung sehr stark wirksam ist. Ich möchte erwähnen, dafs bei sämtlichen Versuchen über den Einflufs von Schwermetallen auf Kolloide oder auf vitale Vorgänge Zink und zum Teil Kadmium durch ihre abnorm hohen Werte ausgezeichnet sind. Man ist geneigt, die starke Wirkung von Zink seiner starken Hydrolyse zuzuschreiben. Ich mufs das auf Grund meiner Experimente bezweifeln. Wie ich gezeigt habe, bringen die Kolloide keine Differenzen in der Agglutinabilität der Blutkörperchen zum Vorschein — und bei Zink sehen wir gerade die Unterschiede am schönsten ausgeprägt. Auf die ver-

1) s. o.

mutliche Ursache dieser Erscheinung komme ich später zu sprechen.

4. Die Fällung hängt auch ab von der elektrolytischen Dissoziation des Elektrolyten. Als Beispiel möge $Hg\,Cl_2$, vielleicht auch $Zn\,(CH_3COO)_2$ dienen.

5. Die Eythrozyten werden durch ein- und zweiwertige Salze der Alkalien und Erdalkalien nicht ausgeflockt.

Wenn man die oben formulierten Gesetze mit denen vergleicht, die Bechhold, Neifser und Friedemann für die Fällung von Bakterien und Suspensionen aufgestellt haben, so liegt die volle Identität auf der Hand. Und wenn sich vielleicht kleine Unterschiede werden finden können, die möglicherweise mit dem hohen Gehalte der Bakterien an Nukleinstoffen zusammenhängen, so steht der systematischen Betrachtung der Blutkörperchen als Suspensionen von höherer Stabilität (durch die stabilen Eiweifsstoffe, die sie enthalten) nichts im Wege.

Die Eigentümlichkeiten der Eiweifsfällung kommen auch bei der Blutfällung zum Ausdruck. So zeigen die Blutkörperchen die Stabilität der Eisweifslösungen: sie werden von Salzen mit hoher Entladungsspannung — in geringeren Konzentrationen nicht ausgeflockt, gegen Schwermetallsalze erweisen sie sich dagegen sehr empfindlich. So wird die Kataphorese der Blutkörperchen, wie die des Eiweifses, von der Reaktion des Lösungsmittels stark beeinflufst, — ja, die von Höber[1]) ermittelte Sonderstellung von Zink und Kadmium, die je nach der zugesetzten Menge auf die Blutkörperchen positivierend oder negativierend wirken, hängt möglicherweise mit den von Pauli[2]) bei Eiweifs-Zinkfällung nachgewiesenen zwei Fällungsmaxima, wobei, nach der elektrischen Theorie der Fällung — die Umkehrung der Kataphorese zu erwarten ist.

Nachdem die allgemeinen Bedingungen der Blutkörperchenfällung besprochen sind, möchte ich speziell auf meine Befunde unter dem Gesichtspunkte eingehen, den ich im ersten Teil der Arbeit berührt habe: nämlich, ob sich die Reihenfolge in der

1) Physik. Chemie der Zelle u. Gewebe.

2) Hofmeisters Beiträge 1906.

Agglutinabilität der Erythrozyten auch in ihren Beziehungen zu Salzen und Kolloiden wiederfindet, ob sich also die Blutkörperchenfällung durch das Serum als ein spezielles Problem der Kolloidforschung herausstellen und in ihr sich auflösen wird.

Wollen wir uns noch einmal vergegenwärtigen: die Fällung mit den unorgan. Kolloiden hat keine Differenz in der Agglutinabilität ergeben, ebenso mit den dreiwertigen Salzen. Von den anderen Salzen bringen die mit niedriger Entladungsspannung geringe Unterschiede zum Ausdruck, auch nicht in derselben Reihenfolge, wie Abrin und Serum; je mehr wir aufwärts zu den Salzen mit hoher Entladungsspannung kommen, um so gröfser die Differenzen und, was das wichtigste ist, um so ähnlicher der Serumfällung gestaltet sich die Reihenfolge der Erythrozyten. Bei Zink endlich, das in bezug auf Haftintensität von den Schwermetallsalzen die höchste Stellung annimmt, fällt die Reihenfolge mit der von Serum beinahe zusammen. Ich möchte dies ganz besonders hervorheben: denn Zink fällt sehr stark — und trotzdem bringt es die Unterschiede zum Ausdruck. Ich erblicke hierin einen Beweis, dafs, um eine mit Serum identische Reihenfolge in der Agglutinabilität der Blutarten hervorzurufen, die hohe Entladungsspannung, — und nicht die absolute Fällungsstärke — mafsgebend ist.

Wenn auch Porges bereits bei den Bakterien Unterschiede bei der Fällung mit Alkalien und Erdalkalien gefunden hat, so dürfte es doch eine höchst unerwartete Tatsache sein, dafs die morphologisch und chemisch scheinbar so gleich gebauten Erythrozyten der Säuger physikalisch-chemisch so enorme Unterschiede aufweisen.

Theoretischer Teil.

Wir wollen nun sehen, ob die gefundenen Gesetzmäfsigkeiten sich auf begründete physikalisch-chemische Tatsachen zurückführen lassen und in ihnen eine Erklärung finden. Dabei müssen wir von der wohlberechtigten Vorstellung ausgehen, dafs die Blutkörperchen Teilchen darstellen, welche elektrische Ladungen

tragen und diese mit einer gewissen Kraft festhalten, welche der Haftintensität der Ionen analog ist. Da nun bei der Ausflockung die Kolloide oder Kationen eine Verbindung mit der Substanz des Blutkörperchens eingehen, wobei es zur Bildung ungeladener Komplexe kommt, so ist dieser Vorgang in gewisser Hinsicht mit dem Ausfallen unlöslicher Salze zu vergleichen und eine Übertragung der für diese aufgestellten Theorien auf das vorliegende Problem gerechtfertigt.

In der Tat hoffe ich zeigen zu können, dafs die von Abegg und Bodländer aufgefundenen Beziehungen zwischen der Löslichkeit der Salze und den Eigenschaften ihrer Ionen die von mir gefundenen Gesetzmäfsigkeiten ungezwungen zu erklären vermögen.

Es ist einleuchtend, dafs die Neigung eines Ions in den unelektrischen Zustand überzugehen (Bildung unlöslicher Salze, undissoziierter Molekelen) umso gröfser sein mufs, je geringer seine Affinität zum Elektron, d. h. seine Elektroaffinität ist. Nun spielt aber bei der Bildung von nicht dissozierten resp. unlöslichen Molekeln die chemische Affinität der beiden Ionen eine erhebliche Rolle, indem sie der elektrolytischen Dissoziation und damit der Ionenlöslichkeit entgegenstrebt. Diese Beziehungen haben Abegg und Bodländer[1]) in folgende Formel gebracht:

$$0{,}116\ (0.087,\ 0.058)\ \log p = E_a + E_k - E_s,$$

wo E_s bedeutet die freie Bildungsenergie der nicht dissoziierten Salze, (durch die Bildungswärme annähernd gemessen) E_a und E_k die Zersetzungsspannungen von Anion und Kation in normaler Lösung, p — die Ionenkonzentration der gesättigten Lösung des Salzes, ausgedrückt in Bruchteilen der Normallösungen. — Die von mir gefundenen Gesetzmäfsigkeiten lassen sich unmittelbar aus dieser Formel ablesen, wenn wir unter E_k die Zersetzungsspannung (Haftintensität) des fällenden Kations, unter E_a die Elektroaffinität der Blutkörperchen und unter E_s die hier wie bei den Salzen im allgemeinen unbekannte freie Bildungsenergie der Blutkörperchen-Ionenverbindung verstehen. p stellt alsdann ange-

1) Zeitschr. f. physik. Chemie 1899.

nähert die Quote der suspensionsfähigen Blutkörperchen dar und steht zur Stärke der Agglutination im reziproken Verhältnis. Je niedriger E_k ist, um so kleiner wird auch log$p$., d. h. die Suspensionsstabilität der Blutkörperchenjonenverbindung. Um vollständige Agglutination zu erzielen, werden daher bei den Jonen mit niedriger Entladungsspannung geringere Konzentrationen erforderlich sein, wie es auch der Versuch ergibt. Die Abweichungen bei Zn, die, wie bereits erwähnt, auch bei anderen biologischen Reaktionen beobachtet wurden, dürften sich wohl aus dem unverhältnismäfsig hohen Wert von E_s bei den Zinkeiweifsverbindungen ergeben.

Diese Annahme läfst sich sogar direkt theoretisch aus einer von Abegg und Bodländer gefundenen Gesetzmäfsigkeit ableiten, nach welcher die Bildungsenergie der nicht dissoziierten Molekeln (annähernd gemessen durch die entwickelte Wärme) in einem gewissen Zusammenhang mit den Haftintensitäten der Jonen steht. Im allgemeinen steigt nämlich die Stärke der Atombindung mit der Elektroaffinität. Während aber bei den Jonen mit niedriger Entladungsspannung E_s langsamer wächst als E_k, findet bei den Jonen mit grofser Elektroaffinität das Umgekehrte statt: die Kurve der Werte $E_a + E_k - E_s$, d. h. die Suspensionsstabilität mufs also zwischen Zn und Cu ein Maximum aufweisen. In der Tat bilden die Entladungsspannungen die Reihe Cu, Pb, Ni, Cd, Zn, während sich die Jonen nach dem Fällungsvermögen in die Reihe Cu, Zn, Pb, Cd, Ni einordnen.

In ganz analoger Weise werden wir uns vorzustellen haben, dafs die schwer agglutinablen Blutkörperchen (Rind, Ziege, zum Teil Hammel) gegenüber den anderen ihre elektrischen Ladungen mit gröfserer Kraft festhalten. Nach dem oben Gesagten mufs bei den Jonen mit hoher Entladungsspannung neben der Electroaffinität der Blutkörperchen die freie Bildungsenergie eine gröfsere Rolle spielen als bei den Jonen mit niedriger Entladungsspannung. Die Unterschiede in der Reihenfolge der Suspensionsstabilität der Blutarten gegenüber verschiedenen Salzen bilden daher eine direkte Forderung der Theorie, indem beim Cu mehr die Elektroaffinität, beim Zn daneben die chemische Affinität die Agglutinabilität der Blutkörperchen bestimmt.

Ganz besonders scheint mir aber die auffallende Tatsache, dafs die Jonen mit kleiner Entladungsspannung alle Blutarten ziemlich gleich stark agglutinieren, während z. B. beim Zink die gröfsten Unterschiede zum Vorschein kommen, — einer Erklärung durch die Theorie von Abegg und Bodländer zugänglich. Ist E_k sehr klein, so erreicht die Gröfse $E_k - E_s$ einen hohen negativen Wert, so dafs geringe Schwankungen von E_a ohne grofsen Einflufs sein müssen. Je gröfser hingegen E_k wird, um so mehr nähert sich der Wert von $E_k - E_s$ der Null, um so gröfsere Bedeutung gewinnen geringe Unterschiede in den Haftintensitäten der Blutkörperchen. Ich glaube daher, dafs meine Versuche, wenn auch zunächst auf hypothetischem Wege, Schlüsse auf eine der experimentellen Forschung bisher unzugängliche Gröfse, nämlich die Elektroaffinität der Blutkörperchen, zulassen.

Was ich über die Fällung der Blutkörperchen durch die Salze der Schwermetalle gesagt habe, läfst sich ohne weiteres auf die Kolloid-Blutkörperchen-Fällung übertragen. Denn auch die Kolloidteilchen müssen wir uns als Teilchen mit elektrischen Ladungen, die mit einer gewissen Haftintensität festgehalten werden, vorstellen. Dafs die anorganischen Kolloide durchgehends wirken und keine Unterschiede zwischen den einzelnen Blutarten erkennen lassen, dürfte darin seinen Grund haben, dafs im allgemeinen nur solche Elemente, welche als Jonen eine sehr niedrige Entladungsspannung besitzen, zur Bildung kolloidaler Lösungen befähigt sind und wir uns infolgedessen wohl auch die Haftintensitäten der unorganischen Kolloide als sehr gering vorstellen müssen.

Ganz anders hingegen liegen die Verhältnisse bei den organischen Kolloiden, welche ja bekanntlich gegenüber Elektrolyten eine grofse Stabilität aufweisen, nach den oben entwickelten Anschauungen daher ihre elektrischen Ladungen mit grofser Kraft festhalten. Machen wir nun die an sich wohl nicht unwahrscheinliche Annahme, dafs die agglutinierenden Stoffe der normalen Sera organische Kolloide sind, so müssen wir erwarten, dafs sie die einzelnen Blutarten verschieden stark agglutinieren. Die Versuche haben ergeben, dafs nicht nur diese Folgerung zu Recht

besteht, sondern dafs sogar die Reihenfolge der Agglutinabilität der Blutarten gegenüber Serum und Abrin beinahe vollständig mit der gegenüber dem noch selbständig agglutinierenden Jon von höchster Entladungsspannung, nämlich Zink, übereinstimmt. Diese Befunde rechtfertigen eine von der bisherigen ganz abweichende Auffassung mansher Immunitätsreaktionen. Wenn die Blutkörperchen der Spezies A, B, C, D — von einem Agglutinin X gleich stark agglutiniert werden, von einem anderen Y in ungleicher Weise, so sind wir nicht ohne weiteres berechtigt den Schlufs zu ziehen, dafs die betreffenden Blutarten zu dem Agglutinin X die gleiche, zu y eine ungleiche Affinität besitzen, sondern der angenommene Tatbestand ist vollkommen erklärt, wenn wir annehmen, dafs die Elektroaffinität (E_k) bei Y gröfser ist wie bei X, während die chemische Affinität nicht erheblich differiert.

Ja es erscheint sogar möglich, dafs aus den Empfindlichkeitsunterschieden der Blutarten gegenüber einem Agglutinin Rückschlüsse auf dessen Elektroaffinität gemacht werden können, und auf diesem indirekten Wege direkt nicht mefsbare Eigenschaften der Immunkörper festzustellen wären.

Wenn daher verschiedene Sera eine Bakterien- oder Blutkörperchenart verschieden stark agglutinieren, so sind wir durchaus nicht ohne weiteres berechtigt, aus diesem Verhalten auf einen verschiedenen Gehalt an Agglutineinheiten zu schliefsen. Vielmehr könnten diese Unterschiede auf qualitativen Differenzen der Sera beruhen und nach den obigen Erörterungen ist es besonders naheliegend, an eine verschiedene Elektroaffinität der in den Seris wirksamen kolloidalen Stoffe zu denken.

Die Agglutinine der in meinen Versuchen als stark wirksam gefundenen Sera vom Huhn, Schwein, Rind, hätten demnach eine geringe Elektroaffinität, die schlecht agglutinierenden Sera vom Hund und Meerschweinchen eine grofse Haftintensität aufzuweisen. In der Tat konnte Bürgi[1]) zeigen, dafs die Sera der verschiedenen Tierspezies in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften erheblich differieren, und dafs diese Unterschiede in derselben Richtung

1) Archiv für Hygiene, 1907.

wie ihre agglutinierende Kraft auf Bakterien liegen: während nämlich die stark wirksamen Sera von Ziege und Rind etc. noch in den stärksten Verdünnungen Mastixsuspensionen auszuflocken vermochten, war das schwach agglutinierende Meerschweinchenserum hierzu überhaupt nicht imstande.

Unter diesem Gesichtspunkte müfste man daher den Agglutinationstiter in erster Linie durch die physikalischen Eigenschaften des Serums erklären, und die Berechnung nach Agglutinineinheiten dürfte den tatsächlichen Verhältnissen nicht im vollen Umfange gerecht werden. Nach dieser Vorstellung dürften sich unsere Befunde zu der Annahme der Pluralität der Normalagglutinine in keinem direkten Widerspruche befinden.

Allerdings möchte ich eine andere Erklärungsmöglichkeit nicht übergehen, welche dem gleichen Verhalten der Blutarten gegenüber den Serumagglutininen, Abrin und den Zn-Salzen ebenfalls gerecht wird. Bechhold, Neifser und Friedemann[1]) hatten bei der Bakterienagglutination beobachtet, dafs unter der Einwirkung des spezifischen Agglutinins eine eigentümliche Umwandlung der Bakterien stattfindet, nach der diese sonst so stabilen Gebilde eine grofse Empfindlichkeit auch gegen die Jonen mit höchster Entladungsspannung (z. B. Alkalisalze) erlangen. Die Autoren erörtern daher die Möglichkeit, dafs das Agglutinin gar nicht direkt fällend wirkt, sondern nur die Bakterien der agglutinierenden Wirkung der Salze zugänglich macht. In der gleichen Weise könnten wir uns vorstellen, dafs auch die Hämagglutinine der normalen Sera sowie des Abrins nur vorbereitend wirken, die Fällung selbst hingegen den Salzen des umgebenden Mediums zu verdanken ist. Da diese jedoch stets eine hohe Entladungsspannung besitzen, so ist ohne weiteres ersichtlich, dafs grofse Differenzen in der Agglutinabilität der Blutkörperchen auftreten müssen, und es kann auch nicht wundernehmen, dafs beim Zn, dem allein fällenden Jon mit höchster Entladungsspannung, die Agglutinabilität die gleiche Skala bildet wie beim Serum und Abrin.

1) Vgl. auch Bordet.

Diese Vorstellung besitzt den Vorzug grofser Einfachheit, ist aber nicht so umfassend, wie die vorher gegebene; denn sie vermag die bei allen Blutarten wiederkehrende Skala der Sera, vor allem aber deren Parallelität zu der Ausflockung des Mastix, welche auf eine direkt fällende Rolle der Serumagglutinine hinweist, nur gezwungen zu erklären. Möglicherweise ist, woran schon Landsteiner gedacht hat, der Wirkungsmechanismus bei Normal- und Immunagglutininen ein verschiedener.

Es ist mir, wie ich glaube, im vorhergehenden gelungen, die Agglutinabilität der Blutkörperchen auf physikalisch-chemische Eigenschaften zurückzuführen. In letzter Linie müssen aber diese in der chemischen Zusammensetzung der Blutzellen begründet sein. Wenn wir uns auch natürlich direkt über derartig feine Differenzen im chemischen Bau der Zelle keinen Aufschlufs verschaffen können, so scheinen doch einige bisher nicht erörterte auffallende Beziehungen der Blutkörperchenagglutinabilität zu anderen Eigenschaften einen Fingerzeig zu geben. Es ist nämlich höchst merkwürdig, dafs die inagglutinablen Blutarten — Rind, Ziege, Hammel — auch gegen das Hämolysin des Kobragiftes unempfindlich sind. Von Kyes[1]) wurde dies Verhalten durch einen Mangel an disponiblem Lezithin erklärt. Landsteiner und Eisler[2]) fanden ferner, dafs dieselben Blutarten eine Polstellung in bezug auf die Empfindlichkeit gegenüber Säuren und Laugen annehmen, wobei die gegen Säure resistenteren Blutarten gegen Laugen grössere Empfindlichkeit an den Tag legen.

Es ist zu hoffen, dafs weitere Versuche in dieser Richtung ein eingehenderes Verständnis des Agglutinationsvorganges ermöglichen werden.

Wenn man bedenkt, dafs dieselben Regeln, die ich in bezug auf Schwermetallfällung für Blut dargetan habe, auch ganz andere Gebiete beherrschen, wie Nerven- und Muskelerregung,

---

1) Berl. klin. Wochenschr. 1902.

2) Münch. med. Wochenschr. 1904.

wie Giftigkeit für wachsende Organismen, Bakterien- und Eiweifsfällung, Drüsentätigkeit und Befruchtungsvorgang, Fixierung und Färbung der Gewebe, so erkennt man die enorme Wichtigkeit der Kolloidfrage, die die verschiedensten Probleme unter einen einheitlichen Gesichtspunkte zu stellen und zu lösen vermag.

Zusammenfassung.

I. Bei allen untersuchten Blutarten zeigen die normalen Sera der verschiedenen Tierspezies in ihrer agglutinierenden Kraft die gleiche Reihenfolge.

II. Gegenüber allen untersuchten Seris weisen die verschiedenen Blutarten die gleiche Skala der Agglutinabilität auf. (Eine Ausnahme von dieser Regel bilden Kombinationen von denselben oder nahe verwandte Spezies.) Der Agglutinationseffekt ist daher eine additive Gröfse, zusammengesetzt aus der agglutinierenden Kraft des Serum und der Agglutinabilität der Blutkörperchen.

III. Die gleiche Reihenfolge der Agglutinabilität der Blutarten findet sich beim Abrin.

IV. Gegenüber anorganischen Kolloiden und 3 wertigen Salzen kommen die Differenzen in der Agglutinabilität der Blutkörperchen nicht zum Ausdruck.

V. Die Jonen der zweiwertigen Metalle wirken um so besser agglutinierend, je kleiner ihre Entladungsspannung ist. Die Unterschiede in der Agglutinabilität der Blutarten sind am stärksten bei Salzen mit hoher Entladungsspannung ausgeprägt.

VI. Die Reihenfolge in der Agglutinabilität der Blutarten ist bei Zinksalzen mit der bei Serum und Abrin beinahe identisch, während bei den Salzen mit niedriger Entladungsspannung die Reihenfolge von der bei Serum und Abrin abweicht.

VII. Die Blutkörperchen werden als elektrisch geladene Teilchen aufgefafst, die ihre Ladung mit einer gewissen Haftintensität festhalten. Dieselbe Vorstellung ist auf

die Teilchen des in kolloidaler Lösung befindlichen Agglutinins anwendbar. Unter diesen Gesichtspunkten stellt sich die Agglutinationshöhe als eine Funktion der Haftintensitäten der Blutkörperchen und des Agglutinins dar. Unter dieser Voraussetzung läßt sich auf den Agglutinationsvorgang die Theorie von Abegg und Bodländer über den Zusammenhang zwischen der Jonenlöslichkeit und Elektroaffinität anwenden und gestattet eine theoretische Ableitung der von mir unter IV, V, VI experimentell gefundenen Tatsachen.

VIII. Die schlecht agglutinabeln Blutkörperchen von Rind, Ziege und Hammel sind auch gegen das Hämolysin des Kobragiftes unempfindlich.

Herrn Geh. Medizinalrat Professor Dr. Rubner sage ich für das Interesse sowie die Erlaubnis, im Institut zu arbeiten, meinen ergebensten Dank.

Die Wärmeabgabe des Menschen in ungleichmäfsig temperierten Räumen.

Von

Dr. **Karl Kifskalt,**

Privatdozenten und Oberassistenten am Institute.

(Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Es ist eine bekannte Tatsache, dafs es nicht leicht ist, ein kaltes Zimmer durch schnelles Anheizen zu einem behaglichen Aufenthaltsort zu machen. Man pflegt dies so zu erklären, dafs, »wenn nur die Luft eine höhere Temperatur angenommen hat, die Wärme aber noch nicht, man fröstelt, wegen vermehrter Ausstrahlung nach den kalten Wänden bei Lufttemperaturen, welche uns sonst vollauf behaglich sind« (1, S. 162). Diese Erklärung ist sicher richtig und wird von keiner Seite bezweifelt; doch existieren noch keine exakten Untersuchungen darüber, wie grofs der Wärmeverlust in solchen schlecht angeheizten Zimmern ist gegenüber dem in gut geheizten Zimmern. Die Lehrbücher der Hygiene verzeichnen einfach die Tatsache. Auch die Forderungen, die Trélat als Referent des internationalen Hygienekongresses zu Paris 1899 aufstellte: »die Oberflächen der Wände . . . müfsten auf eine solche Temperatur gebracht werden, dafs die Wärmestrahlen, die sie aussenden, und die wir empfangen, auf die Körpertemperatur nicht störend einwirken« (2, S. 215) beruhen nicht, wie Schmidt (3, S. 294) nach einem ungenauen

Zitat angibt, auf derartigen Erwägungen, sondern sie werden nur dadurch begründet, dafs auch die natürliche Erwärmung durch die Sonne und den Boden durch Strahlung geschehe.

Will man ein derartiges Problem von der wissenschaftlichen Seite anfassen, so ist es immer nötig, von den einfachsten Verhältnissen auszugehen. Wir sind ja in vielen Teilen unserer Wissenschaft noch weit davon entfernt, alle Vorgänge in Formeln fassen zu können, aus denen sich dann umgekehrt wieder ableiten läfst, was in einem gegebenen Falle eintreten mufs. Wo es aber, wie hier, möglich ist, eine Aufgabe auf einfache Verhältnisse zurückzuführen, da sollte es auch geschehen, um feste Grundlagen zu erhalten. Auch in der vorliegenden Arbeit sollte daher zunächst der einfachste Fall untersucht werden, nämlich bei Abkühlung von Kugeln in zwei Räumen, bei denen in dem einen Luft und Wand gleichmäfsig, in dem anderen ungleichmäfsig temperiert waren.

Eine mit Quecksilber gefüllte Glaskugel hing an einem kurzen Halse an Drähten von der Decke herab. Ihr Radius war 3,24 cm, ihre Oberfläche 133 qcm, ihr Gewicht 0,0319 kg, das des Quecksilbers 1,676 kg. In die Mitte tauchte ein 200°-Thermometer ein. Nimmt man die spez. Wärme des Glases zu 0,132, die des Quecksilbers zu 0,033, so erhält man als Wasserwert 59,416, einschliefslich des Thermometers rund 61 kleine Kalorien.

Der Raum, in dem die ersten Versuche angestellt wurden, lag über dem Tierstalle; er hatte eine Gröfse von 5,50:3,15:3,60 m, lag an zwei Seiten frei und hatte hier 5 qm Fensterfläche. Die Kugel hing in der Mitte, 1,80 m über dem Fufsboden. — Sie wurde mit einem Bunsenbrenner (Spiritusflammen hinterlassen eine Spur Rufs, der das Strahlungsvermögen ändert) auf etwa 190° erhitzt und dann mittels eines 1,65 m entfernten Fernrohres und einer Sekundenuhr bestimmt, in welcher Zeit die Temperatur um 1° abfiel. Es wurde darauf geachtet, dafs in dem Zimmer kein Luftzug die Wärmeleitung störend beeinflufste. Sämtliche Versuche wurden zunächst im ungeheizten Zimmer gemacht, nachdem lange vor dem Versuche das Fenster offen gestanden war. Die Aufsentemperatur war zunächst nicht sehr niedrig, so dafs an-

genommen werden konnte, dafs die Temperatur der Wand mit der der Zimmerluft übereinstimmte.

Weitere Versuche wurden im Stinkzimmer und im kleinen Hörsaale des Institutes angestellt. Beide Räume waren geheizt, doch war die Aufsentemperatur mild und die Heizung schon seit Tagen im Gang, weshalb angenommen werden kann, dafs auch hier die Wandtemperatur mit der Lufttemperatur gleich war.

Besonders wertvoll dürften die Untersuchungen sein, die im Respirationsapparate angestellt wurden. Hier war das Material der Wand gleichmäfsig, da die Fensterflächen sehr klein sind, aufserdem die Temperatur der Luft und der Wand sicher gleich, da der Respirationsapparat in einem Zimmer stand und seine Tür den ganzen Tag aufser während des Versuchs offen war. Seine Gröfse ist 1,5:2,5:2 m. Die Kugel wurde stets aufserhalb des Apparates erwärmt, die Temperaturen von aufsen durch das Fenster abgelesen. — Sämtliche Thermometer, die zur Verwendung kamen, waren selbstverständlich miteinander verglichen worden.

Die erhaltenen Zahlen wurden tabellarisch eingetragen. Da jedoch die Zimmertemperaturen in den einzelnen Versuchen verschiedene waren, so wurde sofort die Zimmertemperatur von der Temperatur der Kugel subtrahiert und diese Differenz mit der dazugehörigen Sekundenzahl, innerhalb welcher die Temperatur der Kugel um 1° fiel, in die Tabelle I (S. 290—295) eingetragen. Man sieht, dafs die Sekundenzahl bei gleichen Differenzen fast genau gleich ist. Die gemessene Zimmertemperatur ist in gewissen Abständen in Klammern beigefügt.

Eine Ableitung der Formel zur Berechnung der Zeit, innerhalb der sich die Kugel um 1° abkühlt, ist nun in folgender Weise möglich: Man subtrahiert die Logarithmen zweier Differenzen, in den vorliegenden Versuchen solcher, die um 1° voneinander entfernt sind, multipliziert mit 100000 und dividiert durch die Anzahl der Sekunden. Der Quotient wird als Ordinate, die Differenz als Abszisse eingetragen. Es zeigt sich, dafs die Linie eine Gerade ist, die der Abszisse in einem Winkel α zu-

(Fortsetzung des Textes S. 296.)

Tabelle I.

D =	Abkühlung um 1° in ? Sekunden																
	Zimmer über dem Tierstall										Stink-zimmer	kleiner Hörsal	Respirationsapparat				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			1	2	3	4	5
		12,2	12,2														
176—175		5,2	5,5														
175						11,0					13,3						
174				11,8	11,1	5,5											
173		5,6									5,9						
172				5,6	5,8												
171																	
170						5,4											
169											6,1	17,2					
168	5,6	6,1		5,8						5,3							
167												6,0					
166																	
165	6,2		6,0	6,4						6,2	6,1	6,0					
164																	
163	5,8	6,5			6,6	6,4											
162			6,5							6,6		6,0					
161																	
160					6,6							17,0					
159		6,5	6,9	7,4		6,4				6,6	6,3	6,2					
158																	
157	6,6										6,3						
156					7,0	6,8				7,2		6,8					
155		7,1	7,3									16,9					
154				7,8													
153	6,8					7,0				7,2		6,8					
152		7,1	7,9								7,1						
151																	
150					7,6	7,1				7,4							

149	7,0		7,3								6,7	7,2					
148		7,5		8,0												20,6	
147					7,8					7,8							
146			7,3													7,8	
145						7,6					13,0						
144										8,6							21,0
143		7,3		8,4	7,8	8,3											
142	7,8	8,1	7,9								8,7						
141						8,2				8,0							8,0
140				8,4								7,8				8,2	
139	8,2					8,3					8,1						
138		8,5	8,1									8,2					
137					8,5	8,7				8,6							
136											8,5						
135			8,9							8,8		8,8				8,4	
134	8,8																
133		9,0			8,6												
132			8,9			9,1						9,0					8,8
131	9,0	9,2							7,5	5,0							
130					9,4						9,1	8,6					
129									8,6							9,2	9,0
128		9,8	9,3	9,0		9,2											
127	9,6				9,3				9,0		9,5	9,2	20,6				
126				10,7						9,6							9,4
125		9,5				9,1			9,6				9,8			9,6	
124					9,9							9,8					
123									9,8	9,8	9,5						9,4
122	10,2		9,5			9,6						9,6				10,0	
121									10,4	10,8			10,0	20,3			
120		9,8									10,7	9,0					
119	9,6		9,5			9,6				10,4				10,0		9,4	
118												9,8	11,0				

Fortsetzung der Tabelle I.

$D =$	Abkühlung um 1° in ? Sekunden																
	Zimmer über dem Tierstall										Stink-zimmer	kleiner Hörsaal	Respirationsapparat				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			1	2	3	4	5
117		10,0							10,0		10,3						
116			10,5		10,3	10,0				11,0		10,0		10,0		9,8	
115		9,4							11,2								11,2
114	10,2		12,1								10,3						
113			11,0			10,8				11,8		10,2	11,0			9,6	
112					11,1												
111	9,8	11,2									11,1	16,7					
110	11,8										10,9		10,8	10,6			
109	11,8	11,4			11,0	11,0					12,7	11,6				11,4	
108									11,6	11,8							10,8
107					11,3						11,2	10,8		11,2			
106			12,1							12,6						11,4	10,8
105		11,8										11,8					
104					12,0												
103		12,4			12,2									12,6			
102										12,4		11,8					
101	12,2															12,2	
100					12,4					13,2							14,0
99			13,4						12,4	4,8				12,0			
98												12,8					
97									13,2	14,2							
96	12,8					13,6											
95			15,1		14,5				13,0	14,2							13,2
94											14,0			12,2			
93		12,8				14,0			14,0	14,4							
92					14,4												
91		14,4	14,8						14,4	15,2				15,8			

90											14,8						
89	14,2	15,2			15,0	14,4			14,6	15,0							
88		12,0									15,0						
87									15,2	16,4							
86			16,2		15,2	15,1					15,3	15,0					
85	15,2								15,4	16,0							
84											12,7	15,4					
83			18,2		16,6	16,9			16,2		16,2						
82	17,6									17,2							
81					16,8	16,3			7,4					17,8			16,4
80										18,6	16,2	16,8					
79	18,0				17,7	19,3											16,0
78										17,6							
77	18,2		18,2						17,2		18,6	18,4					19,4
76	11,8									18,8							
75						18,5			17,6		19,0	18,4			21,8	18,8	
74						20,4				20,0				20,0			
73			20,8														
72										20,8	20,8	19,6			20,6	18,2	
71			19,8		20,3				20,8				20,4				
70						20,0	9,5				20,6					20,6	
69									22,6	22,0		20,8	20,0		21,0		
68			20,8		20,4	21,6	23,4				21,0						
67									22,2						22,4		21,2
66			21,1				23,4				21,6	21,8	21,2			20,8	
65						23,2			24,2	23,8							21,6
64					24,4		25,2				22,4	22,0					
63						24,6			25,0	24,4			22,8	23,4	20,4		
62					24,8							23,8					
61			22,3						25,2	25,8	26,4			25,4			
60																24,3	
59									27,2	27,0				24,0			24,8

Fortsetzung der Tabelle I.

D =	Abkühlung um 1° in ? Sekunden.																
	Zimmer über dem Tierstall										Stink-zimmer	kleiner Horsaal	Respirationsapparat				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			1	2	3	4	5
58												26,0			21,8	24,2	
57			26,8			26,5	27,6		27,4	28,0	27,0						27,8
56					27,2							25,8				29,0	
55			28,9			29,8	28,6		28,2	29,8					28,6		28,4
54					28,4							28,4	29,2			28,2	28,8
53							29,4		30,0	31,2	29,8						
52												29,4					
51							33,4		32,4	32,4	30,6	16,6	28,8		29,6		
50								6,6									
49						33,0	32,3		7,4	5,0	36,4				31,6		32,4
48					36,2			35,2				34,6	31,8			32,8	
47						34,8	38,2				35,8				32,4		33,4
46					36,0							33,8				33,8	
45						37,6	38,0		39,0	39,8	37,1				35,8		36,4
44			39,4		38,4			39,2				34,8		37,2			
43						39,8			41,8	41,8					37,6		
42			40,4					42,4			40,0	39,8				37,4	
41					44,2	43,4	41,4			43,0					40,2		40,0
40			41.6				44,4	41,2			41,4	42,6				42,4	
39						42,6			44,4	45.6				46,6	42,4		42,2
38			12,1				47,2	50,0			46,0	46,0				42,8	21,5
37						48,2			49,0	5,0					44,8		
36					47,8						50,0		45,4	45,8		48,2	
35						50,2				52,0					49,2		
34							52,2	57,4			52,1	53,2	50,6	51,0		51,4	
33					51,0	56,2			53,8	56,8							51,2
32								64,4			57,4	58,0	58,4	53,0	53,6	20,8	

31									61,8	61,0							59,0
30					59,2		64,8				64,8	60,0				60,4	
29						66,6				67,0			60,8				60,6
28					68,6		69,0	73,4				66,6				64,6	
27						71,4			73,8			[16,6]	70,4	[20,8]			66,4
26					73,4		75,4	81,2			78,4	71,2					
25						83,0			85,2	72,2				84,0			
24							80,6	91,4			85,2	81,8				80,0	
23						89,2			93,2	84,6					87,6		80,8
22					90,0		101,8	97,0			94,0	89,0	79,2	83,6		91,6	
21									103,2	98,0					93,2	[20,9]	92,8
20					101,8			111,0			110,2	98,8		99,4		96,8	
19					[11,6]	109,2			114,6	112,2			101,2				108,0
18							110,6	119,8						114,4		117,8	
17						128,2			125,6	116,8		[16,6]					
16							143,6	134,0		[5,0]	142,8	137,2	129,4	134,2		138,2	
15						155,6				143,6							
14							158,8	164,6				154,2	150,2				
13									190,9	172,8			[20,3]		168,0		175,0
12							182,0	184,4				181,8		188,0		204,8	
11						216,2			209,0	213,0	221,8				224,0		225,4
10						[11,6]	[10,4]	246,1			252,8	228,2					
9										274,8				318,8			294
8								326,0			[12,6]	330,2		318,8			325
7									361,2	418,6							
6								[6,6]				472,6					
5,3—4,3									[7,5]	[5,0]				521,4	526,6	531	
4,3—3,3												[16,6]			566,6	561	
2,2—1,2														1994			

strebt. Nur bei sehr grofser Annäherung an $D = O$ weicht sie von der Geraden etwas ab, indem sie sich der Abszisse dann schneller nähert. — Daraus ergibt sich für den Geradenteil: $y = b + x \operatorname{tg} \alpha$, wobei y die Abszisse, x die Ordinate, b die Entfernung des (Schnittpunktes der Linie von der Ordinate bei $D = O$ ist.

Trägt man mehrere solcher Kurven ein, so ergibt sich, dafs die Geraden zwar parallel sind, jedoch von der Abszisse einen verschiedenen Abstand haben, und zwar ist er am gröfsten da, wo die Messungen bei hoher, am geringsten, da, wo sie bei niederer Lufttemperatur vorgenommen wurden; er wurde gemessen bei einer Lufttemperatur von 20° zu 20,8, von 5° zu 18,2, bei den übrigen Untersuchungen waren die Abstände entsprechend. Da diese Differenzen sehr gering sind, so kann man ohne weiteres lineare Beziehungen für den Zusammenhang wählen. Daraus ergibt sich $b = 17{,}3 + 0{,}17\, t_1$; tg. α wurde durch Rechnung zu 0,1551 bestimmt.

Die Formel $y = b + x \operatorname{tg} \alpha$ lautet nunmehr:

$$\frac{\lg D - \lg D')\, 100000}{s} = 17{,}333 \ldots + 0{,}17333 \ldots t_1 + D \operatorname{tg} \alpha \quad (1$$

wobei s die Zahl der Sekunden darstellt, innerhalb deren die Temperatur von einer Differenz D zwischen Kugel und Zimmertemperatur auf eine Differenz D' gesunken ist; t_1 ist die Zimmertemperatur. Daraus ergibt sich:

$$s = \frac{(\lg D - \lg D')\, 100\,000}{17{,}33 \ldots + 0{,}1733 \ldots t_1 + 0{,}1551\, D} \quad \ldots\ldots (2$$

Die auf diese Weise beobachteten Zahlen weichen von den durch Messung ermittelten — die natürlich nicht absolut genau sein können — nur um einen geringen Betrag ab. So wurde z. B. für eine Zimmertemperatur von 20° durch Berechnung resp. Messung ermittelt: $D = 100$, $s = 12{,}008$ resp. 12; $D = 80$, $s = 16{,}45$ resp. 17; $D = 60$, $s = 24{,}25$ resp. 22,3; $D = 40$, $s = 40{,}73$ resp. 42; $D = 30$, $s = 57{,}83$ resp. 60,3; $D = 20$, $s = 93{,}21$ resp. 96,8 u. 99,4. Doch wird es sich im folgenden zeigen, dafs es sehr wichtig ist, besonders bei höheren Werten von D, ganz genaue Zahlen zu haben, da schon sehr geringe

Fehler, in manchen Fällen solche um Bruchteile einer Sekunde, ein falsches Resultat ergeben. Nur bei sehr geringen Werten für D wird man vorziehen, mit den gemessenen Zahlen zu arbeiten, da dann die Linie von den Geraden abweicht, d. h. die Zahl der Sekunden gröfser ist, als die Berechnung ergeben würde.

Es soll nun zunächst untersucht werden, ob sich mit Hilfe dieser Formel die Temperatur der bestrahlten Fläche, d. h. der Wand, genau berechnen läfst. Die Wärmeabgabe durch Strahlung geschieht (4, Bd. 2, S. 363) nach der Stefanschen Formel

$$R = \frac{E\,F\,s}{1 + (1 - a_1)\frac{a\,F}{a_1\,F_1}} (T^4 - T_1^4) \quad \ldots\ldots\ldots (3$$

wobei R die abgegebene Wärmemenge, F die Oberfläche des ausstrahlenden Körpers, E sein Emissionsvermögen, a sein Absorptionsvermögen, T seine absolute Temperatur, F_1 die Oberfläche des bestrahlten Körpers, a_1 sein Absorptionsvermögen, T_1 seine absolute Temperatur ist. — Ist die Oberfläche des bestrahlten Körpers sehr grofs gegenüber der Oberfläche des strahlenden Körpers, so ist das 2. Glied im Nenner zu vernachlässigen und die Formel geht in die vereinfachte über:

$$R = E\,F\,s\,(T^4 - T_1^4) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots (4$$

Es wurden nun bestimmte Temperaturen für die Kugel und das Zimmer als Beispiel gesetzt und daraus die Abkühlungszeit nach Formel 2) berechnet. War die ermittelte Sekundenzahl richtig (wobei es, wie erwähnt, manchmal auf Bruchteile einer Sekunde ankam), so mufste sich dann, wenn man die erhaltene Zahl in die Stefansche Formel einsetzte, derselbe Wert für die bestrahlte Wand ($T_1 - 273$) ergeben, der vorher für die Zimmertemperatur gegeben war, da ja Luft und Wand einstweilen als gleich temperiert angenommen worden waren.

Da der Wasserwert der Kugel 61 Kal. betrug und sich die Wärmeabgabe durch Strahlung zu der Gesamtabgabe nach Rubner (5, S. 73) wie 0,468 : 1 verhält, so ist $R = 61 \times 0{,}468$; E ist für Glas $1{,}0846 \times 10^{-12}$; $F = 133$. T_1 kann nun nach der Formel berechnet werden:

$$T_1 = \sqrt[4]{T^4 - \frac{61 \times 0{,}468}{s \times E \times F}}.$$

Nimmt man z. B. die Temperatur der Luft $= 11^0$, die der Kugel $= 41^0$, so ergibt sich $D = 30$.

$$s = \frac{(\lg 30 - \lg 29)\, 100000}{17{,}33 \ldots + 0{,}1733 \ldots \times 11 + 30 \times 0{,}1551} = 61{,}61$$

$$T_1 = \sqrt[4]{314^4 - \frac{61 \times 0{,}468 \times 10^{12}}{61{,}61 \times 1{,}0846 \times 133}} = 284{,}03.$$

also $t_1 = 11{,}03^0$.

Auf diese Weise wurden folgende Zahlen ermittelt:

Für eine Lufttemperatur von 20^0: $D = 156$, $t_1 = 32{,}65$; $D = 100$, $t_1 = 21{,}71$; $D = 80$, $t_1 = 19{,}49$; $D = 60$, $t_1 = 19{,}95$; $D = 40$, $t_1 = 20{,}67$; $D = 30$, $t_1 = 20{,}91$; $D = 20$, $t_1 = 21{,}03$; $D = 10$, $t_1 = 20{,}91$.

Für eine Lufttemperatur von 14^0: $D = 80$, $t_1 = 10{,}83$; $D = 50$, $t_1 = 13{,}03$; $D = 40$, $t_1 = 13{,}8$; $D = 30$, $t_1 = 14{,}34$; $D = 20$, $t_1 = 14{,}53$; $D = 10$, $t_1 = 14{,}8$.

Für eine Lufttemperatur von 11^0: $D = 60$, $t_1 = 8{,}35$; $D = 40$, $t_1 = 9{,}91$; $D = 30$, $t_1 = 11{,}03$; $D = 20$, $t_1 = 11{,}55$; $D = 10$, $t_1 = 11{,}73$.

Für eine Lufttemperatur von 5^0: $D = 100$, $t_1 = -5{,}6$; $D = 60$; $t_1 = 0{,}5$; $D = 40$, $t_1 = 2{,}96$; $D = 30$, $t_1 = 4{,}46$; $D = 20$, $t_1 = 5{,}25$; $D = 10$, $t_1 = 5{,}61$.

Bedenkt man, dafs auch der Hals der Kugel Wärme verlor, ferner dafs dasselbe durch Leitung an den Drähten der Fall war, wo können die Zahlen für genügend genau gelten. Sie sind brauchbar bei einer Lufttemperatur von 20^0 bis zu einem Temperaturunterschied $D = 100$; bei einer Lufttemperatur von 14^0 bis $D = 50$; bei einer Lufttemperatur von 11 und 5^0 bis $D = 30$.

Untersuchungen im schlecht geheizten Zimmer.

Hat die Wand eine niedrigere Temperatur als die Luft, so tritt die Abkühlung durch Leitung in derselben, die durch Strahlung in kürzerer Zeit ein. Die Untersuchung wurde wie vorher vor-

genommen, nur wurde der Respirationsapparat vermittelst 8 Gasflammen geheizt und, nachdem er auf eine konstante Temperatur, etwa 50°, gebracht worden war, die auf 190° erhitzte Kugel hineingehängt. Das Thermometer in der Kugel sank schneller als in den vorhergehenden Versuchen und tiefer als das in der Luft frei aufgehängte; wenn die beiden Instrumente gegeneinander korrigiert wurden um 2,75—3,5°. Die Temperatur der Wand des Respirationsapparates war sicher niedriger als die der Luft darin, da er ständig Wärme an das Zimmer abgab; sobald die Gasflammen angemacht wurden, trat schnelles Sinken ein. Die folgende Tabelle gibt die Resultate der Untersuchungen wieder.

Tabelle II.

D =	Abkühlung um 1° in ? Sekunden							
	Respirationsapparat		Zimmer über dem Tierstall					
	1	2	1	2	3	4	5	6
								16,3
165—164								5,6
164								
163								
162			20,0	18,6				6,0
161								
160								
159			6,6					6,4
158								
157								
156								
155			6,0	7,6				6,6
154								
153								
152			7,2	6,6				6,6
151								
150								
149			6,8	7,2				7,2
148								
147								
146				7,4				
145			7,4					7,4
144								
143								7,6
142			7,4	7,4				
141			19,6					

Fortsetzung der Tabelle II.

D =	Abkühlung um 1° in ? Minuten							
	Respirationsapparat		Zimmer über dem Tierstall					
	1	2	1	2	3	4	5	6
140								
139								8,0
138				8,0				
137								
136			8,4					7,6
135				8,0				15,0
134								
133								8,0
132				8,8				
131			8,6					
130								8,6
129				8,8				
128			9,2					
127								9,2
126								
125			8,9	9,1				
124								9,4
123								
122			10,2	9,1				
121								9,2
120								
119			9,5					
118			19,6	9,3				9,2
117								
116				9,7				10,8
115								
114	47,6							
113	9,0		8,2					10,8
112				10,3			20,0	
111								
110							9,8	10,8
109			10,8	11,3				
108								
107								
106					19,3			11,3
105			11,2					
104		50,0					11,8	
103								11,0
102		9,4	12,2				12,4	
101				12,7	11,6			

Fortsetzung der Tabelle II.

D =	Abkühlung um 1° in ? Minuten							
	Respirations-apparat		Zimmer über dem Tierstall					
	1	2	1	2	3	4	5	6
100							12,6	13,8
99		11,2			11,8			
98			12,9			20,7	12,6	12,4
97			12,4		11,8			
96		11,2				12,0	13,2	13,0
95				12,3	12,2			
94			13,6			12,0	13,0	14,7
93		12,2			12,6			
92			13,8	17,8				
91		50,0				14,2		
90								
89								
88		12,2	14,6	15,0				
87					15,6			
86		12,4	14,8			14,8		15,8
85				15,8				
84						15,4	15,2	16,2
83			15,5					
82				15,8		16,0	16,6	16,4
81		13,2	15,7		16,2			
80						17,2	16,6	
79		13,8			16,8			
78			19,2	17,2		17,8		17,8
77		14,2						
76			17,9	17,4	17,0	18,4	17,4	17,6
75		15,4						
74			18,3	18,4		17,6	18,4	18,8
73		14,4			19,4			
72		50,3				18,6	19,0	19,8
71			18,3		19,6			
70		16,2						18,6
69		50,5	19,1		19,2	20,4		
68				21,2			20,4	19,9
67			21,3		21,6			
66	49,4		19,0	23,2		21,6	21,6	21,2
65	16,2		21,7					
64				22,2		23,4	22,4	23,6
63	17,6		21,7		22,4			
62				22,2		22,6	23,2	24,6
61		18,2	23,1		22,8			

Fortsetzung der Tabelle II.

D =	Abkühlung um 1° in ? Minuten							
	Respirations-apparat		Zimmer über dem Tierstall					
	1	2	1	2	3	4	5	6
60				23,2				24,8
59			23,5					
58				25,6		25,4		
57	20,8		25,5					
56		20,8		27,0		22,4		28,4
55	21,0				27,4		27,0	
54			18,8	28,6		27,4		27,8
53	22,4				29,2		28,8	
52				28,6				30,3
51				30,6	29,2		28,8	
50					17,8			30,8
49	50,3	27,8	31,0	30,8	30,8		30,4	
48		50,5	33,8					14,0
47					33,6		32,2	
46			36,2			34,6		32,8
45	25,8	27,2		36,0	35,4		35,4	
44						36,0		
43	28,2	28,0		38,1	37,6		36,0	
42			38,4			38,6		
41	29,2	29,6		40,5	39,2		38,6	
40	50,3		43,2					40,2
39	31,0	32,4		43,7	40,6		41,4	
38								43,2
37	32,4	32,8	44,6	46,9	44,6		44,4	
36			50,6		19,0		48,6	46,2
35	35,2	34,4		49,9				14,0
34			51,8				19,5	50,2
33				53,1				
32	35,2		57,8			56,0		
31				17,4	60,6		55,6	
30	39,8	36,2	18,8					
29				59,8			60,2	
28	43,8							62,8
27	50,3			67,6	63,8		63,6	13,5
26	48,4	48,2						
25		50,2		76,8	73,2		68,6	80,2
24						77,6	18,7	
23	53,2			83,2	80,4			87,2
22						82,4	87,4	
21	51,0				90,6	19,7		99,0

Fortsetzung der Tabelle II.

$D =$	Abkühlung um 1° in ? Minuten							
	Respirations-apparat		Zimmer über dem Tierstall					
	1	2	1	2	3	4	5	6
20	56,6						100,4	
19					101,4	104,8	[18,6]	107,2
18	66,8						107,6	
17				107,8	117,6	118,6		121,4
16				[17,2]	[18,5]		127,8	[13,2]
15				146,8	137,4		[18,5]	134,6
14					153,6	146,4	144,8	
13	87,8			163,6		154,4		162,0
12				[17,2]	184,3		161,0	170,0
11	105,6				[18,5]	203,6		[13,0]
10	[51,3]	[49,0]				[19,5]	210,2	
9	121,2	131,2						
8							270,4	
7,7—6,7	137,2	141,2						
		[49,4]						
6,8—5,8	146,2	151,2						
5,7—4,7	163,2	188,0					350,4	
	[51,3]	[49,7]					[18,3]	
4,3—3,3	188,2	217,0						
	[52,0]	[49,7]						
3,3—2,3		235,0						
		[49,7]						
3—2	223,0							
2—1	274,0							
	[52,0]	[50,3]						
0,3 bis -0,7[1])		684,0						
		[50,3]						

1) Sinken des Thermometers in der Kugel unter das frei aufgehängte Thermometer.

Für weitere Berechnungen müssen die Sekundenzahlen direkt aus der Tabelle abgelesen werden, was um so eher ge schehen kann, als sie recht genau mit einander übereinstimmen. Aufzeichnen einer Kurve und Ableiten einer Formel wie vorher war nicht möglich, da die Abgabe durch Leitung und Strahlung ganz verschieden und das Verhältnis zu jeder Zeit ein anderes

ist, da letztere im Verhältnis zur ersteren mit Annähern der Temperatur der Kugel an die der Luft bedeutend zunimmt.

Die Bestimmung der Temperatur der Wand konnte nicht durch Ablesen an Thermometern geschehen, auch nicht an solchen, die etwa mit Gips angeklebt waren, da sie an verschiedenen Teilen verschieden war und auch die Flammen nach der Kugel ausstrahlten. Sie wurde daher wieder berechnet und zwar in folgender Weise:

Es wurde zunächst nach der Formel 2) berechnet, wieviel Sekunden nötig gewesen wären, um die Temperatur der Kugel bei der gemessenen Lufttemperatur um 1° sinken zu lassen, falls Wand und Luft gleiche Temperatur gehabt hätten. In dieser Zeit werden aber durch Leitung allein 61 × 0,532 Kalorien abgegeben[1]); in der gemessenen Zeit (Tabelle II) entsprechend weniger. Durch Subtraktion dieser letzteren Zahl von 61 wurde die in der gemessenen Zeit durch Strahlung abgegebene Wärmemenge ermittelt und daraus wie vorher nach der Stefanschen Formel die Temperatur der bestrahlten Wand bestimmt.

Voraussetzung für die Richtigkeit der Rechnung ist allerdings, daſs bei der Temperatur von 50° noch dieselben Gesetze gültig sind, die oben für eine Temperatur von 5—20° abgeleitet wurden.

---

[1]) Es war zunächst versucht worden, nach der von Péclet (6, Bd. I, S. 521) angegebenen Formel den Verlust durch Leitung zu berechnen. Die Formel lautet $A = 0{,}552\, K_1\, D^{1{,}233}$, wobei K_1 für die Kugel $1{,}778 + \frac{0{,}13}{r}$ ist. Berechnet man daraus, wie viel Wärme durch Leitung von der Kugel abgegeben wird, so findet man z. B. bei $D = 50$ und $s = 31{,}9$: 46,85 Kal.; bei $D = 30$ und $s = 60{,}32$: 47,20 Kal. Dies kann unmöglich richtig sein, da der gesamte Wärmeverlust in dieser Zeit nur 61 Kal. beträgt; auch kleine Beobachtungsfehler würden hier keine Rolle spielen. Berechnet man dagegen mit Hilfe der Stefanschen Formel und der berechneten Sekundenzahl den Verlust durch Strahlung allein bei Sinken um 1°, so findet man bei einer Luft- und Wandtemperatur von $t_1 = 20°$, bei $D = 156°$ 29,76 Kal.; bei $D = 100°$ 26,82 Kal.; bei $D = 30°$ 29,32 Kal.; bei $D = 10°$ 31,262 Kal.; bei $t_1 = 5°$ und $D = 156°$ 28,01 Kal.; $D = 100°$ 25,02 Kal.; $D = 30°$ 28,12 Kal.; $D = 10°$ 30,31 Kal., während oben 61 × 0,468 = 28,548 Kal. angenommen wurden. Deshalb wurde vorgezogen, nur die Stefansche Formel zu benutzen, zumal diese an über 6000 Messungen erprobt ist.

Auf diese Weise ergab sich für die Wand bei:

D = 43 — 44,89°; *D* = 41 — 43,14°; *D* = 26 — 43,96°; *D* = 23 — 43,26°; *D* = 18 — 43,04°; *D* = 13 — 42,75°; *D* = 11 bis 44,33°; im Mittel 43,62°. Die Temperatur der Luft hatte im Mittel 50,30, also 7,7° mehr.

Aus diesen Temperaturen und der abgegebenen Sekundenzahl wurde berechnet, wieviel Kalorien in 1 Sekunde von der Kugel durch Strahlung abgegeben wurden. Ferner wurden, wie oben berechnet, wieviel Kalorien in 1 Sekunde bei Temperaturgleichheit von Luft und Wand abgegeben worden wären. Das Resultat ist in Tabelle III wiedergegeben.

Tabelle III.

D =	Kal. in 1 Sek.	statt Kal. in 1 Sek.	also mehr
11	0,3562	0,1948	82,85 %
13	0,4313	0,2318	86,05 %
18	0,5344	0,3332	60,84 %
23	0,6468	0,4397	47,12 %
26	0,6896	0,5043	36,75 %
41	1,094	0,8629	26,78 %
43	1,1241	0,914	22,99 %

Berechnet man in derselben Weise das Plus des Wärmeverlustes durch Leitung und Strahlung zusammen, so erhält man wesentlich andere Zahlen, nämlich:

Tabelle IV.

D	Kal in 1 sek.	statt kal. in 1 sek	also mehr
11	0,5776	0,4162	38,71 %
13	0,6948	0,4953	40,28 %
18	0,9131	0,7119	28,26 %
23	1,1466	0,9394	22,05 %
26	1,2626	1,0777	17,16 %
41	2,075	1,844	12,51 %
43	2,163	1,953	10,73 %

Die Zahlen sind deshalb niedriger, weil infolge des durch stärkere Strahlung bedingten schnelleren Sinkens des Thermo-

meters das Temperaturintervall von 1° schneller durchschritten wurde und in der kürzeren Zeit die Abgabe der Wärme durch Leitung geringer war.

Eine Anzahl Messungen in »ungleich temperierten« Zimmern wurden auch in dem Zimmer über dem Tierstall gemacht. Seine Fenster wurden bei niedriger Aufsentemperatur einige Tage offen gelassen, vor Beginn des Versuches geschlossen, und dann einige Stunden kräftig eingeheizt, wobei die Temperatur des frei aufgehängten Thermometers höher stieg als die der an den Wänden in Augenhöhe mit Gips angeklebten Thermometer. Die Differenz betrug von 2,8 bis 7,3°. Doch darf die Temperatur der Wandthermometer nicht als Temperatur der Wand angenommen werden, da die Decke wärmer war, indem die warme Luft dorthin aufstieg, ebenso vielleicht auch der Fufsboden, da das darunter befindliche Zimmer geheizt war. Dagegen war die Temperatur des Fensters und vielleicht auch eines Teiles der Wand niedriger. Auch hier müfste also die Gesamttemperatur der Wand mit Hilfe der Stefanschen Formel und der auf das genaueste ermittelten Temperatur berechnet werden. Das ist leider nicht möglich, da die Sekundenzahl aus den oben erwähnten Gründen nicht berechnet werden konnte und die abgelesenen Zahlen, selbst wenn die Fehler nur einige Prozent betragen, im vorliegenden Falle nicht brauchbar sind, da dies in der Berechnung schon Fehler um einige Temperaturgrade ausmacht. Bei den im Respirationsapparate ermittelten Zahlen war dies nicht der Fall, da bei der höheren Temperatur kleine Fehler weniger hervortreten. Immerhin zeigen sich deutlich Unterschiede gegenüber den Versuchen im geheizten Zimmer, weshalb auch diese Zahlen angeführt sein sollen. (Tabelle II).

Übertragen wir diese Resultate auf den Menschen. — Es werde zunächst angenommen, dafs sich eine Person der Arbeiterkategorie I, die also im wesentlichen nur durch Umhergehen körperliche Arbeit leistet, in einem Raume befindet, dessen Luft und Wand gleichmäfsig temperiert sind, nämlich 17,5°. Ihr Gesamtkraftwechsel ist zu 2700 Kalorien anzunehmen. Der Ka-

lorienverlust beträgt pro Tag (5, S. 96) durch Atmung 35, durch Arbeit 51, durch Erwärmung der Kost 42; für Wasserverdunstung seien 558 Kal. angenommen, so dafs für Leitung und Strahlung 2014 bleiben. Berechnet man den Verlust durch Strahlung, wobei man nicht, wie in dem zitierten Beispiele das Strahlungsvermögen des Sommerkammgarns zugrunde legt, sondern das eines Winteranzugs, das dem des Wollflanells gleich sein dürfte, so erhält man folgende Zahlen:

Das Strahlungsvermögen des Glases verhält sich zu dem des Rufses = 0,914 : 0,996; das Strahlungsvermögen des Wollflanells verhält sich zu dem des Rufses = 108,7 : 100 (7, S. 13 u. 14). Die Strahlungskonstante des Glases für die Stefansche Gleichung, auf Kal., qcm und Sek. bezogen, ist $1,0846 \times 10^{-12}$. — Daraus ergibt sich die des Wollflanells zu $1,2847 \times 10^{-12}$. — Die der Haut werde gleich der des Waschleders gesetzt; dann ergibt sich in derselben Weise $1,1287 \times 10^{-12}$. Die Oberfläche der bekleideten plus der behaarten Teile wurde wie in obigem Beispiele zu 19404, die der unbehaarten Teile zu 1200 qcm, die Temperatur der Kleidungsoberfläche zu 22,9, die der unbehaarten Teile zu 30° angenommen. Berechnet man mit Hilfe dieser Zahlen und der Stefanschen Formel, wieviel der Körper in einer Stunde durch Strahlung verliert, so ergibt sich: Für die unbekleideten Teil bei einer Temperatur von 17,5° 6,37 Kal.; bei 16,5° 6,847 Kal.; bei 14,5° 7,785 Kal.; bei 12° 8,93 Kal.; bei 9° 10,262 Kal. Für die übrigen Teile bei 17,5° 48,8 Kal.; bei 16,5° 57,5 Kal.; bei 14,5° 74,76 Kal.; bei 12° 95,85 Kal.; bei 9° 120,36 Kal.

Da es aber keine praktische Bedeutung hätte, den Mehrverlust durch Strahlung allein zu berechnen, so wurde der Verlust durch Leitung (28,62 Kal. pro Stunde) und durch Wasserverdunstung (23,25 Kal.) dazugerechnet und Tabelle V (s. S. 308) aufgestellt.

Wenn also die Lufttemperatur 17,5°, die Wandtemperatur in einem schlecht angeheizten Zimmer weniger beträgt, so werden von einer Person bei geringer körperlicher Arbeit pro Grad Temperaturdiffe-

renz etwas über 8% Wärme mehr abgegeben als bei Temperaturgleichheit.

Tabelle V.

Bei geringer Arbeit werden pro Stunde im ganzen abgegeben:

Luft-temperatur	Wand-temperatur	Differenz	abgegebene Kalorien	also mehr als bei gleichmäfsiger Zimmertemperatur
17,5°	17,5°	—	107,04	—
»	16,5°	1	116,22	8,58%
»	14,5°	3	134,41	25,57 »
»	12°	5,5	156,65	46,35 »
»	9°	8,5	182,49	69,55 »

Weiter interessiert uns noch, wie grofs diese Zahlen beim ruhenden Menschen sind; diese Zahlen sind praktisch noch bedeutsamer. — Pro qm Oberfläche sind hier 1189 Kal. zugrunde zu legen (8, S. 398); die Oberfläche des Nackten betrage wieder 2,243 qm, es werden also pro Tag 2267, pro Stunde 111,12 Kal. gebraucht. Die Erwärmung der Atemluft erfordere wieder 35, die der Kost 42 Kal.; für Wasserdampfabgabe werden (9, S. 212) $11{,}4 \times 24 = 273{,}6$ Kal. gerechnet. Der Verlust durch Strahlung beträgt wie vorher 1324 Kal. Dann treffen auf den durch Leitung verursachten 592,4, pro Stunde 24,7 Kal. — Wie vorauszusehen, war der Verlust durch Leitung geringer beim Ruhenden als bei dem, der im Zimmer umhergeht. — Daraus wurden in derselben Weise wie vorher folgende Zahlen berechnet:

Tabelle VI.

Bei Ruhe werden pro Stunde im ganzen abgegeben:

Luft-temperatur	Wand-temperatur	Differenz	abgegebene Kalorien	also mehr als bei gleichmäfsiger Zimmertemperatur
17,5°	17,5°	—	91,27	—
»	16,5°	1	100,45	10,06%
»	14.5°	3	118,67	30,00 »
»	12°	5,5	140,88	54,35 »
»	9°	8,5	166,72	82,67 »

Im angeführten Falle wird also bei Ruhe pro Grad Temperaturdifferenz im ganzen etwa 10% mehr Wärme abgegeben als bei Temperaturgleichheit.

In Wirklichkeit ist die Wärmeabgabe etwas geringer, da ein Teil des Körpers von der Strahlung ausgeschaltet ist, doch ist diese Gröfse nicht genau anzugeben, da sie mit der Sitzgelegenheit (Stuhl, Sessel, Divan) stark variiert.

Von Interesse erschien es noch zu untersuchen, wie eine Person sich verhält, die sich nach starker körperlicher Arbeit in einen solchen Raum begibt um sich auszuruhen. In einem solchen Falle dauert, wie Wolpert und Peters (10)[1]) nachgewiesen haben, die Vermehrung der Wasserdampfabgabe noch einige Zeit an, wodurch eine Vermehrung des Wärmeverlustes bedingt ist. Das Plus betrug 5—9,3 g pro Stunde. Nehmen wir 8 g = 4,3 Kal. und berechnen, wieviel das Plus der Wärmeabgabe in einem ungleichmäfsig temperierten Raume beträgt gegenüber der Wärmeabgabe einer Person, die vorher nicht gearbeitet hat, in einem gleichmäfsig temperierten Raume.

Tabelle VII.

Luft-temperatur	Wand-temperatur	D.	Kal.	also mehr
17,5°	17,5°	—	91,27	—
»	16,5°	1	104.75	14,77 %
»	14,5°	3	122,94	34,70 »
»	12°	5,5	145,18	59,07 »
»	9°	8,5	171,02	87,38 »

Wie man sieht, sind die Werte nicht grofs; bedeutend gröfser dürfte der Wärmeverlust sein, der durch die Verdunstung des in den Kleidern steckenden Schweifses herbeigeführt wird.

Bei der Berechnung ist noch eins zu bedenken. Wenn man einen Körper in einen Raum aufhängt, dessen Wand und Luft ungleichmäfsig temperiert sind, so wird er eine zwischen beiden gelegene Temperatur annehmen. Da die Wärmeabgabe einer Glaskugel durch Strahlung sich zu der durch Leitung etwa wie 1:1 verhält, so wird ihre Temperatur sich auf die Mitte zwischen beiden einstellen. Ist dies beim bekleideten menschlichen Körper auch der Fall, so wird zwar der Verlust durch Strahlung dann

1) s. Literatur S. 311.

geringer sein, da die Temperaturdifferenz zwischen Wand und Kleidungsoberfläche geringer ist, aber der Verlust durch Leitung von der Haut nach der Kleidungsoberfläche erhöht, jedenfalls die Rechnung komplizierter als vorher wird. Doch erwies sich eine nochmalige Rechnung als unnötig, da, wie sich aus früheren Untersuchungen von Rubner (11, S. 31) ergibt, bei Sinken der Luft- und der Wandtemperatur von 17,5 auf 10° die Kleidungsoberfläche nur von 22,7 auf 19,3° sinkt, bei Sinken der Wandtemperatur allein also noch viel weniger, sodafs die Unterschiede von obigen Zahlen ganz verschwindend würden.

Es wurde bereits erwähnt, dafs zahlenmäfsige Angaben, wie grofs die Temperaturdifferenz zwischen Luft und Wand in einem derartigen unbehaglichen Zimmer ist, nicht existieren. Mir selbst ist es nicht gelungen, eine gröfsere Temperaturdifferenz als 7,4° herbeizuführen, und auch diese sank schnell ab auf 5,5°. Leichter war eine solche von 4—5° auf einige Zeit zu erreichen, doch ist dabei zu bedenken, dafs das Zimmer absichtlich einige Tage ausgekühlt und dann möglichst stark angeheizt wurde. Sie wird in praxi bei Lokalheizung selten vorkommen, eher schon bei Luftheizung. Auch ist an den Fall zu denken, dafs eine Wand dem Nordwind exponiert ist, wobei noch die Gefahren einer einseitigen Abkühlung dazukommen. Jedenfalls aber beweisen die Zahlen, dafs schon anscheinend geringfügige Differenzen einen starken Wärmeverlust bedingen, und es ist daher darauf zu sehen, dafs die Beheizung der Zimmer nicht nur eine direkte, durch einen Heizkörper oder die erwärmte Luft, sondern auch eine indirekte, von den erst sekundär erwärmten Wänden aus sein mufs.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Rubner, erlaube ich mir für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und seine Unterstützung dabei meinen ergebensten Dank zu sagen.

Literatur.

1) Rubner, Lehrbuch der Hygiene. 7. Aufl. 1903.

2) Trélat, Le chauffage et l'aération des habitations. Congrès international d'hygiène et de démographie. Paris 1889.

3) Schmidt, Heizung und Ventilation, in Weyls Handbuch der Hygiene, Bd. 4, 1896.

4) Wüllner, Lehrbuch der Experimentalphysik. 5. Aufl. 1896.

5) Rubner, Zur Bilanz unserer Wärmeökonomie. Archiv f. Hygiene, Bd. 27, 1896, S. 69.

6) Péclet, Traité de la chaleur. 4. Aufl. 1878.

7) Rubner, Das Strahlungsvermögen der Kleidungsstoffe nach absolutem Mafse. Archiv f. Hygiene, Bd. 17, 1893, S. 1.

8) Rubner, Kalorimetrische Untersuchungen II. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 21, 1885, S. 337.

9) Rubner, Die Gesetze des Energieverbrauchs. 1902.

10) Wolpert u. Peters, Über die Nachwirkung körperlicher Arbeit auf die Wasserdampfabgabe des Menschen. Archiv f. Hygiene, Bd. 55, 1906, S. 309.

11) Rubner, Thermische Studien über die Bekleidung des Menschen. Archiv f. Hygiene, Bd. 23, 1895, S. 13.

Zentrosomen oder Kernreste in den Erythrozyten des normalen strömenden Blutes?

Von

Prof. Dr. **Franz Weidenreich**

in Strafsburg.

Durch die Liebenswürdigkeit des Autors erhalte ich Kenntnis von der Abhandlung A. Nifsles: »Über Zentrosomen und Dehlersche Reifen in kernlosen Erythrozyten« im Bd. 61 dieser Zeitschrift. Ich werde dadurch aufmerksam gemacht, dafs die von mir beschriebenen eigentümlichen, chromatischen Körnchen vieler kernloser Erythrozyten des normalen strömenden Blutes schon früher von diesem Autor gesehen und als Zentrosomen gedeutet wurden. Da die betreffende Abhandlung, in der sich diese Mitteilung befindet, den allgemein gehaltenen Titel: »Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Tiere« führt und zudem in den Jahresberichten für Anatomie und Entwicklungsgeschichte nicht referiert und nicht einmal aufgeführt ist, so ist mein Versehen wohl entschuldbar.

Nun behauptet Nifsle, dafs die fraglichen Gebilde die erhalten gebliebenen Zentrosomen seien, während ich sie für die letzten Reste des ursprünglichen Kernes gehalten habe. Nach der Kenntnisnahme der beiden Arbeiten jenes Autors besteht für mich nicht der geringste Anlafs, von dieser meiner Beurteilung abzulassen. Für Nifsle war lediglich der allgemeine Habitus, unter dem die Körnchen erscheinen, mafsgebend. Dafs daraus

nicht ohne weiteres auf die Zentrosomennatur geschlossen werden darf, sollte eigentlich selbstverständlich sein. Die Tatsache, dafs von Dehler und Heidenhain in kernhaltigen roten Blutkörperchen Zentrosomen beschrieben wurden, beweist nicht das geringste dafür, dafs in kernlosen Erythrozyten gefundene ähnliche Gebilde mit jenen identisch sind. Man darf um so mehr an der Berechtigung dieser Deutung zweifeln, als es ein meines Wissens völlig ohne jedes Analogon in der Zellbiologie dastehender Fall wäre, dafs die Zentrosomen erhalten bleiben, während der Zellkern völlig schwindet und auch das Protoplasma in seiner Gesamtheit eingreifende Umwandlungen erfährt. Schon dieser Umstand verlangt nach ganz anderen Beweisen, als sie Nifsle bringen kann. Da müfste doch vor allem einmal von der Mitose an das Zentrosom in seinem besonderen Verhalten verfolgt werden!

Ist also von Nifsle überhaupt kein genügender Beweis für seine Ansicht erbracht worden, so ist es auf der andern Seite leicht, die Kernnatur jener Körnchen nachzuweisen. Zunächst färben sich die Körnchen mit allen typischen Kernfarbstoffen, was bekanntlich für die Zentrosomen nicht zutrifft; so besitze ich Präparate, in denen die Körnchen gefärbt erscheinen, nicht aber die Zentrosomen der daneben liegenden Leukozyten, die mit typischen Zentrosomenfärbungen gut darstellbar sind. Aber abgesehen davon, habe ich durch Untersuchung fötalen Blutes und des Knochenmarks den Nachweis erbracht, dafs sich meist eine kontinuierliche Reihe aufstellen läfst, die von den fragmentierten und pyknotischen Kernen der Erythroblasten zu jenen Körnchen führt. Nifsle kritisiert zwar diesen Nachweis, ich glaube aber, dafs hier eine Kritik nur dann berechtigt ist, wenn sie sich auf eine exakte Nachprüfung meiner Angaben stützt. Inzwischen ist diese von anderer Seite erfolgt. Im letzten Heft des Arch. d'Anat. microscop. (T. IX. F. II, S. 133—314) publiziert J. Jolly eine sehr ausführliche Untersuchung über die Kernumwandlung der roten Blutkörperchen, in der er genau zu den gleichen Resultaten kommt wie ich. Auch er leitet jene fragliche Körnchen in kontinuierlicher Reihe,

vom Kerne ab und die figürlichen Belege, die er dafür gibt, stimmen auffallend mit den meinigen überein. Jolly weicht nur darin von mir ab, dafs er beim normalen, erwachsenen Menschen die Körnchen nicht gesehen haben will, sondern nur in den kernlosen Erythrozyten des fötalen und anämischen Blutes; diese Differenz ist aber hier belanglos, da sie sich ja ebensogut gegen Nifsle wie gegen mich richtet. Ich halte also meine Deutung, wonach die Körnchen Kernreste (Chromatinstäubchen) sind, für durchaus gesichert, während für ihre Zentrosomennatur im Sinne Nifsles jeder Beweis fehlt.

Strafsburg, Juni 1907.

Die Wirkung verschiedener chemischer Agentien auf das Wutvirus.[1])

Von

Prof. **Claudio Fermi.**

(Hygienisches Institut der Kgl. Universität Sassari. Prof. Claudio Fermi.)

Die Kenntnis der lyssatötenden Minimalmenge der verschiedenen chemischen Stoffe ist uns noch vollständig fremd. Dies erklärt sich teilweise durch den Mangel von zur subkutanen Lyssainfektion empfindlichen Tieren und teilweise aus der grofsen Anzahl von kostbaren Tieren (Kaninchen oder Meerschweinchen), die dazu notwendig waren.

Die verschiedenen Autoren haben sich daher begnügen müssen, nur zu bestimmen, in welcher Zeit eine gegebene Lösung einer bestimmten chemischen Substanz imstande ist, das Wutvirus zu zerstören. Dies kann man in nachstehenden Tabellen sehen, in welchen die verschiedenen Stoffe in alphabetischer Reihenfolge angegeben sind.

Um das Kapitel über die Wirkung der verschiedenen chemisch-physischen Agentien auf das Wutvirus zu vervollständigen, sowie um einige Aufklärung zu schaffen über die Natur des Wutvirus und die verschiedentliche Widerstandsfähigkeit desselben den genannten Faktoren gegenüber und mit jener der bekannten Mikroorganismen verglichen, ferner weil diese

1) Eine vorläufige Mitteilung über diesen Gegenstand habe ich schon im Jahre 1905 in der Riforma Medica (XXI. Jahrg. Nr. 36) veröffentlicht.

Kenntnisse mir zu einigen Forschungen über die Immunisierung und die Behandlung der Tollwut dienen sollten, studierte ich die Wirkung einer Serie chemischer vorwiegend antiseptischer Substanzen in bezug auf das Wutvirus.

Chem. Substanzen [1])	Prozentzahl der gebrauchten Lösungen	Der Wutvirus wurde zerstört in	
Essigsäure . . .		5′	De Blasi e Russo Travali
Borsäure	4	15	
Zitronensäure . .	6	10′	Galtier
Salzsäure	5	5′	De Blasi e Russo Travali
Salizylsäure . . .	5 (!)	5′	De Blasi e Russo Travali
Schwefelsäure . .	10	5′	
Alkohol	15	lebt noch nach 7 Tagen	Celli e Luigi De Blasi
	25	5 Tagen	
	50—90	24 Stunden	
Ammoniak . . .	Konzentriert	10′	De Blasi e Russo Travali
Kreolin	1	3′	
Formol		5′—10′	Caterina
Holzrauch . . .	$^1/_2$	20 Stunden	
Glyzerin		1 Monat	
Silbernitrat . . .	50	5′	De Blasi e Russo Travali
	25	10′	
Kalipermanganat .	2,5	24 Stunden	Celli e Luigi De Blasi
	1	20′	De Blasi e Russo Travali
Kalihydrat . . .	5	Sofort	
Kupfersulfat . .	10	10′	Celli e Luigi De Blasi
Zinksulfat . . .	1	10′	De Blasi e Russo Travali
Sublimat	1°/₀₀₀	Sofort	Celli, Luigi De Blasi e Calabrese
	1°/₀₀	Sofort	
Zitronensaft . . .		3′	Galtier

1) Bekanntlich kombinieren sich Spuren dieser Stoffe (Sublimat, Säuren usw.) mit den eiweißähnlichen; und andere (Nitrat argen usw.) mit den Salzen (Chlornatrium etc.), doch wäre es eine außerordentliche, unnütze, und mit dem Zwecke nicht im Einklange stehende Arbeit gewesen, chemisch den Inhalt der verschiedenen chemischen, der Emulsion beigefügten Stoffe, festzustellen.

Übrigens habe ich die Methode befolgt, die beim Studium der verschiedenen Antiseptika auf die Mikroorganismen im Gebrauch ist, um auch den Wutvirus mit jenen vergleichen zu können.

In ähnlichen Forschungen handelt es sich nicht darum, die Menge der absoluten freien Substanz festzustellen, die auf die Mikroorganismen einwirkt, sondern um zu wissen, wie viel Stoffe, unter gegebenen Bedingungen,

Untersuchungsmethode: Man giefse in Prouvetten oder in kleine Kelchgläser die 10 ccm gut zubereitete Emulsion von frischem feinen Virus zu 1 : 10 (1 g Mark in 10 ccm destilliertes Wasser enthalten), verschiedene Quantitäten der verschiedenen Stofflösungen; man schüttle dieselben gut 1 Minute lang, lasse die Prouvetten $^1/_4$ Stunde lang ruhen und prüfe die Virulenz des so behandelten Virus auf Ratten und Mäusen nach indem man $^1/_2$ oder $^1/_4$ ccm diesen Tieren subkutan injizierte.

Man war stets darauf bedacht, die Nadel der Spritze in die Mitte der Flüssigkeit einzuführen, um die Berührung der Wandung des Röhrchens oder des Gläschens zu vermeiden, und um zu verhüten, dafs mit der Nadel irgendein Stückchen Mark durch Anhängen an die Wandung des Gefäfses der Wirkung des Antiseptikum für die bestimmte Zeit sich hätte entziehen können.

Da unser Zweck ist, die tödliche Minimaldosis der verschiedenen chemischen Substanzen zu kennen, so bereitete man für jede Substanz fast immer 5—7 Proben mit verschiedenen Quantitäten des Antiseptikum und zwar 1, 2, 3, 4, 5, 6 bis 7 Zehntel der Lösung der verschiedenen Substanzen.

Auf diese Weise konnte die tödliche Minimaldosis leicht festgestellt werden. Aufserdem bestätigten von den 5—7 Proben die einen das Resultat der anderen und dienten zugleich als Kontrollproben.

Geschah es bisweilen, dafs alle Dosen zu schwach waren und der Virus überlebte und sämtliche 5—7 Mäuse an der Wut starben, so wurde der Versuch mit einer gröfseren Anzahl von Zehnteln derselben Lösung wiederholt oder der Prozentsatz letzterer gesteigert, oder die Zahl der erwähnten Zehntel gelassen. Die sehr zahlreichen Reihen von Versuchen, die 619 Tiere verlangt haben, sind in der ausführlichen Arbeit (L'Azion di vari agenti chimici sul virus rabico. — Tipografia degli Olmi-Scansano, 1906) zu finden.

---

hinzugefügt werden müssen, um die Mikroorganismen zu töten oder ihre Entwicklung aufzuhalten.

Die Forschung nach der Menge der aktiven freien Substanzen ist nicht nur, wie gesagt unnütz, sondern sie würde zu oft langen und nicht immer fehlerfreien Bestimmungen führen.

In der untenstehenden Tafel werden wir die gewonnenen Resultate zusammenfassen. chemische Stoff in der entsprechenden

Versuchte Stoffe	Konzentration	½/10	1/10	1½/10	2/10	2½/10	3/10	4/10
Essigsäure . . .	5 : 100		00					00
	5 : 100				††			††
Salizylsäure . .	5 : 100	††	††	††††	00		00	
Zitronensäure . .	5 : 100				00			00
	2 : 100				††			††
Milchsäure . . .	5 : 100				00			00
	2 : 100				††			††
Salzsäure	5 : 100				00			00
	2 : 100				00			00
	2 : 100	0	0		0	0		
Schwefelsäure . .	5 : 100				00			00
	2 : 100				00			00
	2 : 100	0	0	0	0			
	1 : 200	†	0		0		0	
Kalipermanganat	5 : 100		††		††	††††	††	00
Alaun	10 : 100		††				††	00
Chlornatrium . .	30 : 100	†††	††			†††		†††
	30 : 100							
	30 : 100							
	50 : 100							
Natrium fluorur* .	1 : 100							
Natriumkarbonat .	20 : 100		††		††		††	††
	20 : 100							
	20 : 100							
Ammoniak . . .	1 %?				††		††	††
Jod	5 : 100	††††		000000	00		000	00
	1 : 100				††			††
Kupfersulfat . .	1 : 100				†			0
Jodkali	5 : 100				00			00
	5 : 100				0††			††
Jodalbacid* . . .	1 : 100				††			00
Silbernitrat* . . .	1 : 100		††		††		00	00
	1 : 1000				††			
Tachiol*	1 : 5000				†			†
	1 : 5000	†	0	0	†			†
	1 : 200	†	0	0				

Die † bedeuten, dafs das Tier aus Wut gestorben ist, und dafs daher der versuchte Dosis den Wutvirus nicht tötete.

$^{5}/_{10}$	$^{6}/_{10}$	$^{7}/_{10}$	$^{7\frac{1}{2}}/_{10}$	$^{8}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{12}/_{10}$	$^{14}/_{10}$	$^{15}/_{10}$	$^{20}/_{10}$	$^{30}/_{10}$
				00		00					
				00		00					
				00		00					
				00		00					
				00		00					
				00		00					
				00		00					
				00		00					
				00		00					
				00		00					
00	00										
00††	††			††		††	0	0			
†††			†††			†††					
†††						†††			†††	†††	
††						††			††	†0	
†						†				†	0
††						††			00	00	
0000	00					00	0	0			
††	††			††		00	00	00			
	00			00		00					
00											
00											
				00		00	00				
				0		0					
				00		00					
	0			††		0††			0		
				00		00					
00											
††				0		0					
				†							
				0		0					

Versuchte Stoffe	Konzentration	½/10	1/10	1½/10	2/10	2½/10	3/10	4/10
Ichthargan*	1 : 500				††			††
	1 : 500	†	†		†			
	1 : 500				0 †			0
	1 : 500						0	0
Collargol*	1 : 100				0			0
	1 : 1000				†			†
Protorgol*	1 : 100				†			†
Largin	1 : 100				†			†
Argonin	1 : 100				†			†
Sublimat*	1 : 5000				†			†
	1 : 5000				0			0
	1 : 10,000	††	0 †		0		0 †	† 0 0
	1 : 5000				0			0
	1 : 20,000	†			†			
Ermophenil*	1 : 100				†			†
Karbolsäure	5 : 100			††††	††	†††	0 0	0 0
	5 : 100		††		†		††	††
Tymol	1 : 100				††			††
Lysoform	5 : 100				††			††
	5 : 100							††
Alumnol	1 : 100				††			††
Abrastol (asaprol)*	1 : 100				††			††
	1 : 100				†			†
Formalin		†	†		†		†	
Chinin Bisulfat	5 : 100		††	††††	††††	†	††††	0 0
Chloroform	1 : 5				††			††
	1 : 5				†			†
Wassersauerstoff-superoxyd			††		††		††	††
					††		††	††
			††		0		0	0
Methylenblau	1 : 100	† 0 0		††††††††			0 0 0	0 0 0
Malachitgrün	1 : 100	††			†††		†††††	00000
Larycith	1 : 1000		††††		††	†	††	0 0 †

Bemerkungen. Die mit einem Sternchen gezeichneten

Aus vorhergehender Tabelle mit Hilfe einfacher Formel[1])

1) $x = \frac{(100 + n) \cdot 1000}{nr.}$

W = Zahl der zu 10 ccm Emulsion zugefügten Lösungszehnteln.
R = Titel der geprüften chemischen Lösung pro Tausend.

5/10	6/10	7/10	7½/10	8/10	9/10	10/10	12/10	14/10	15/10	20/10	30/10
				††		††					
				0		0					
0											
				0		0					
				†		†					
				†		0					
				0		0					
				0		0					
				†		†					
				0		0					
				0		0			0		
				0		0					
†				†		†			0		
				0		0					
0000††											
000	00	00									
				00		00					
				††		00					
††	0000††	00		0000							
				††		00					
				00		00					
				†		†					
						00					
				††		00					
				0		0					
0											
††											
0											
00						00			0	00	0
0000	00	00		00							
00	†										

Stoffe wirkten 30 Minuten lang auf den fixen Virus ein.

wurde die folgende Tabelle, welche die tödliche minimale Menge der verschiedenen chemischen Stoffe auf den Wutvirus ergibt:

Versuchte Substanzen	Prozentzahl der versuchten Lösungen	Menge der verschiedenen Substanzen bei welcher das fixe Virus widerstand: Zehntel der verschied. Substanzen-Lösungen, die z. 10 ccm Emulsion beigefügt wurden	Menge der verschiedenen Substanzen bei welcher das fixe Virus widerstand: berechnete Prozentzahl	Menge der verschiedenen Substanzen bei welcher das fixe Virus zerstört wurde: Zehntel der verschied. Substanzen-Lösungen, die z. 10 ccm Emulsion beigefügt wurden	Menge der verschiedenen Substanzen bei welcher das fixe Virus zerstört wurde: berechnete Prozentzahl
Essigsäure	2 : 100	4	1 : 1300	8	1 : 675
Salicylsäure	5 : 100	$1\frac{1}{2}$	1 : 1346,67	2	1 : 1020
Zitronensäure	2 : 100	4	1 : 1300	8	1 : 675
Milchsäure	2 : 100	4	1 : 1300	8	1 : 675
Salzsäure	1 : 100	1	1 : 10,100	2	1 : 5,100
Schwefelsäure	1 : 200	$\frac{1}{2}$	1 : 40,200	1	1 : 20,200
Kalipermangat	5 : 100	3	1 : 686,67	4	1 : 520
Alaun	10 : 100	10	1 : 110	12	1 : 93,33
Chlornatrium	50 : 100	20	1 : 12	30	1 : 8,67
Natriumfluorur*	1 : 100	10	1 : 1100	15	1 : 766,67
Natriumkarbonat	20 : 100	4	1 : 130	5	1 : 105
	— —	8	1 : 67,5	10	1 : 55
Ammoniak	1 %	4	1 : 2600	5	1 : 2100
Jod	5 : 100	$\frac{1}{2}$	1 : 4020	$1\frac{1}{2}$	1 : 1346,67
	1 : 100	4	1 : 2600	8	1 : 1350
Kupfersulfat	1 : 100	2	1 : 5100	4	1 : 2600
Jodkali	5 : 100				
Jodalbacid*	1 : 100	2	1 : 5100	4	1 : 2600
Silbernitrat*	1 : 100	2	1 : 5100	3	1 : 3433
	1 : 100	4	1 : 26,000	8	1 : 13,500
Takiol*	1 : 200	$\frac{1}{2}$	1 : 402,000	1	1 : 20,200
	1 : 500	4	1 : 130,000	8	1 : 67,500
Collargol*	1 : 100	10			
	1 : 100			2	
Ictargan	1 : 1000	10			
	1 : 500	2	1 : 25,500	3	1 : 17166,67
Protargol*	1 : 100	8	1 : 1350	10	1 : 1100
Largin	1 : 100	4	1 : 2600	8	1 : 1350
Argonin*	1 : 100	4	1 : 2600	8	1 : 1350
Sublimat*	1 : 10 000	4	1 : 260,000	8	1 : 135,000
Ermophenil*	1 : 100	4	1 : 2600	8	1 : 1350
Karbolsäure	5 : 100	$2\frac{1}{2}$	1 : 520	3	1 : 420
Thymol*	1 : 100	4	1 : 2600	8	1 : 1350
Lysoform*	5 : 100	8	1 : 270	10	1 : 220
Alumnol*	1 : 100	8	1 : 1350	10	1 : 1100
Abrastol*	1 : 100	4	1 : 2600	8	1 : 1350
Chininbisulfat	5 : 100	3	1 : 686,67	10	1 : 210
Chloroform	20 : 100	4	1 : 130	8	1 : 675
Wassersauerstoff-superoxyd		4	1 : 25	5	1 : 20
Methylenblau	1 : 100	$1\frac{1}{2}$	1 : 6733,33	3	1 : 3433,33
Malachitgrün	1 : 100	3	1 : 3433,33	4	1 : 2600
Larycith III	1 : 100	5	1 : 21,000	6	1 : 17666,67

Bemerkung: Die mit einem Sternchen bezeichneten Stoffe wirkten 30 Minuten auf den fixen Virus ein.

Resultate: Aus diesen Tabellen ergibt sich folgendes:

1. Die Essigsäure zerstört in 1/4 Std. den fixen Virus schon in einer Proportion von 1 : 675, während sie bei 1 : 1300 inaktiv bleibt.
2. Die Salizylsäure zerstört in 1/4 Std. den fixen Virus im Verhältnis von 1 : 1020, während sie bei 1 : 1346,67 inaktiv bleibt.
3. Die Zitronensäure zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 675, inaktiv bei 1 : 1300.
4. Die Milchsäure zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 675, inaktiv bei 1 : 1300.
5. Die Salzsäure zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 5100 und ist inaktiv bei 1 : 10100.
6. Die Schwefelsäure zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 20200 und ist inaktiv bei 1 : 40200.
7. Kalipermanganat zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 520, inaktiv bei 1 : 686,67.
8. Der Alaun zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 93,33, inaktiv bei 1 : 110.
9. Das Chlornatrium zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 8,67, inaktiv bei 1 : 12.
10. Das Natriumfluorur zerstört in 30 Min. bei 1 : 776,67, inaktiv bei 1 : 1100.
11. Das Natriumkarbonat tötet in 1/4 Std. bei 1 : 105, inaktiv bei 1 : 130.
12. Ammoniak zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 2100, inaktiv bei 1 : 2600.
13. Jod tötet in 1/4 Std. bei 1 : 1350, inaktiv bei 1 : 2600.
14. Jodalbacid zerstört in 30 Min. bei 1 : 5400, inaktiv bei 1 : 15,100.
15. Kupfersulfat zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 2600, inaktiv bei 1 : 5100.
16. Silbernitrat zerstört in 30 Min. bei 1 : 3433, inaktiv bei 1 : 5100 oder tötet bei 1 : 13500 und inaktiv bei 1 : 26,000.
17. Tachiol tötet in 30 Min. bei 1 : 20,200, inaktiv bei 1 : 40,200 oder wirksam bei 1 : 67,500 und wirksam bei 1 : 130,000.
18. Ichthargan tötet in 30 Min. bei 1 : 17166, inaktiv bei 1 : 25500.

19. Collargol tötet in 30 Min. bei 1 : 10200, inaktiv bei 1 : 22000.
20. Protargol tötet in 30 Min. bei 1 : 1100, inaktiv bei 1 : 1350.
21. Largin tötet in 30 Min. bei 1 : 1350, inaktiv bei 1 : 2600, L'Argonin tötet in 30 Min. bei 1 : 1350, inaktiv bei 1 : 2600.
22. Sublimat tötet in 30 Min. bei 1 : 153333,34, inaktiv bei 1 : 220000.
23. Ermophenil tötet in 30 Min. bei 1 : 1350, inaktiv bei 1 : 2600.
24. Karbolsäure tötet in 1/4 Std. bei 1 : 420, inaktiv bei 1 : 520.
25. Thymol tötet in 30 Min. bei 1 : 1350, inaktiv bei 1 : 2600.
26. Lysoform tötet in 30 Min. bei 1 : 220, inaktiv bei 1 : 270.
27. Alumnol tötet in 30 Min. bei 1 : 1100, inaktiv bei 1 : 1350.
28. Assaprol tötet in 30 Min. bei 1 : 1350, inaktiv bei 1 : 2600.
29. Chininbisulfat tötet in 1/4 Std. bei 1 : 220, inaktiv bei 1 : 687.
30. Chloroform zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 67,5, inaktiv bei 1 : 130.
31. Wassersauerstoffsuperoxyd tötet in 1/4 Std. bei 1 : 20, inaktiv bei 1 : 25.
32. Methylenblau tötet in 1/4 Std. bei 1 : 3433,33, inaktiv bei 1 : 6733,33.
33. Malachitgrün tötet in 1/4 Std. bei 1 : 2600, inaktiv bei 1 : 3433,33.
34. Larycith zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 11000, inaktiv bei 1 : 13500.

Schlufsfolgerungen.

Indem wir zur näheren Kenntnis der lyssatötenden Minimalmenge der verschiedenen superimentierten Substanzen auf die Tabelle zurückweisen, führen wir hier einige allgemeine Schlufsfolgerungen an, die wir daraus ziehen können:

1. Die lyssatötende Wirkung der organischen Säuren (Essigsäure, Zitronensäure, Milchsäure) war ungefähr die gleiche (aktiv zu 1 : 675 ungefähr, inaktiv zu 1 : 3000 ungefähr).

Die der Salizylsäure ist stärker (aktiv zu 1 : 1020 ungefähr und inaktiv zu 1 : 1346).

Wirksamer sind einige Mineralsäuren, z. B. die Schwefelsäure zerstört in 1/4 Std. bei 1 : 20200 und ist inaktiv bei 1 : 40200 und die Salzsäure zerstört bei 1 : 5100 und ist unaktiv bei 1 : 10100.

2. Das Natriumfluorur (1 : 766) war aktiver als das Kalipermanganat (1 : 520).

3. Das Ammoniak war noch viel aktiver (1 : 2100) als das kohlensaure Natron (1 : 105), und dieses war wiederum aktiver als das Alaun (1 : 93).

4. Das Chlornatrium zeigt unter den versuchten Stoffen die schwächste lyssatötende Wirkung (1 : 8).

5. Das Jod übte eine ziemlich energische Wirkung aus, die noch stärker war als jene des Jodalbacid.

6. Das Kupfersulfat war noch viel aktiver (1 : 26000) als alle Säuren, als das Kalipermanganat, als das Jod und als die Karbolsäure.

6a. Nach dem Sublimat übten einige Silberzusammensetzungen die energischste Wirkung aus. Unter diesen Silberzusammensetzungen kommt in erster Reihe das Takiol (aktiv bei 1 : 67000 und inaktiv bei 1 : 130,000 ungefähr), sodann das Nitratum argentum (aktiv bei 1 : 13500 und inaktiv bei 1 : 26000), das Ichthargan (aktiv bei 1 : 13000 und inaktiv bei 1 : 33000 ungefähr), das Collargol (aktiv bei 1 : 10200 und inaktiv bei 1 : 22000); dann das Largin und das Argonin (aktiv bei 1 : 1350 und inaktiv bei 1 : 26000). Zuletzt endlich kommt das Protargol (aktiv bei 1 : 1100 und inaktiv bei 1 : 1350 ungefähr).

7. Unter den angewandten Substanzen nimmt natürlich das Sublimat die erste Stelle ein (aktiv bei 1 : 131000 und inaktiv bei 1 : 260000). Das Ermophenil, welches ebenfalls eine Quecksilberverbindung ist, übt eine unendlich schwächere Wirkung aus (aktiv bei 1 : 1350 und inaktiv bei 1 : 2600).

8. Das Wassersauerstoffsuperoxyd hat eine sehr schwache lyssatötende Wirkung (aktiv bei 1 : 20, inaktiv bei 1 : 25).

9. Ebenso ist die Wirkung des Chloroforms sehr schwach (aktiv bei 1 : 67, inaktiv bei 1 : 130).

10. Das Thymol übt eine lyssatötende Wirkung aus (aktiv bei 1 : 1350 und inaktiv bei 1 : 2600), die viel energischer ist als die Karbolsäure (aktiv bei 1 : 420 und inaktiv bei 1 : 520) und noch stärker als die des Isophorms (aktiv bei 1 : 220 und inakitv bei 1 : 270).

11. Das Alumnol und das Abrastol zeigten eine ziemlich gute Wirkung. (Alumnol, aktiv bei 1 : 1100, inaktiv bei 1 : 1350; Abrastol, aktiv bei 1 : 1350, inaktiv bei 1 : 2600).

12. Schwach war die Tätigkeit des Chininbisulfat (aktiv bei 1 : 220, inaktiv bei 1 : 186).

13. Eine verhältnismäfsig energische lyssatötende Tätigkeit fand ich bei einigen Anilinfarben und besonders beim Larycith III (aktiv bei 1 : 11000, inaktiv bei 1 : 13500), welches das Malachitgrün übertraf (aktiv bei 1 : 2600, inaktiv bei 1 : 3400) und noch mehr das Methylenblau, das sich als die am wenigsten energische dieser drei Substanzen zeigte (aktiv bei 1 : 340, inaktiv bei 1 : 670).

I. Anhang.

Wirkung des Kokains und des Olokains auf das Wutvirus.

Unter den verschiedenen von mir probierten Mitteln, um die Einspritzungen in der Pasteurschen Kur so schmerzlos als möglich zu machen, besonders wenn es sich um Kinder und Frauen handelt, fand ich als das wirksamste und billigste jenes, einige Tropfen von einer 1proz. Kokain- oder Olokainlösung mit der bereits mit der Emulsion angefüllten Spritze aufzusaugen.

Bevor ich jedoch diese Methode der Anästhesie zur Anwendung brachte, hielt ich es für meine Pflicht, mich zu vergewissern, ob das Kokain und das Olokain nicht irgendeine Wirkung auf das Wutvirus ausübten.

Da es äufserst lang und schwer gewesen wäre zu entscheiden, ob die momentan auch nur teilweise mit der Markemulsion in Berührung kommenden Kokain- und Olokainspuren einen schäd-

lichen Einflufs auf den Impfstoff ausüben, so studierte ich hingegen die Wirkung dieser beiden Anästhetica auf frisches Mark und unter den obigen Bedingungen.

Versuche mit Kokain.

1. Versuch. Zu 3 ccm Emulsion von frischem feinen Virus von Kaninchen fügte ich 0,25 (ungefähr 5 Tropfen) einer Kokainlösung zu 2%, indem ich so eine Kokainlösung von 0,17% erhielt. Hierauf impfte ich drei Kaninchen sub dura.

Resultat: Die Tiere verenden regelmäfsig mit dem gewöhnlichen symptomatologischen Bilde der Tollwut am 7. Tage.

2. Versuch: Zu 3 ccm Emulsion von frischem feinen Kaninchenvirus 0,40 (= 8 Tropfen) einer 2proz. Kokainlösung hinzu und impfte sofort 3 Kaninchen sub dura.

Resultat: Die Tiere starben an der Tollwut am 7. Tage.

3. Versuch: Man bereitet eine Emulsion frischen fixen Virus 1:3 direkt mit der 2proz. Kokainlösung und impft 4 Kaninchen.

Resultat: Die Tiere starben zwischen dem 8. und 9. Tage, d. i. mit einer Verspätung von 1—2 Tagen.

4. Versuch: Da ich wahrnahm, dafs das vollständig unschädliche Verhältnis des Kokains jenes von 0,25 einer Lösung zu 2% in 3 ccm war, überstieg ich dasselbe nicht, ging hingegen herab auf 0,1%, nämlich 1‰.

Bevor ich jedoch dasselbe an Personen anwandte, versuchte ich es neuerdings an 30 Kaninchen. Man ging wie gewöhnlich vor. Man bereitete die Spritze im Augenblicke der Injektion und aspirierte 0,25 einer 2proz. Kokainlösung.

Resultat: Alle 30 Kaninchen starben regelmäfsig am 7. Tage ohne irgend einen Unterschied in dem symptomatotischen Bilde zu bieten.

Versuche mit Olokain.

Diese Versuche wurden in derselben Weise wie die vorigen angestellt. Der Kürze halber unterlasse ich es, sie hier anzuführen. Das Resultat war ungefähr dasselbe wie jenes mit dem Kokain.

Anwendung der Methode beim Menschen.

Angesichts der geringen Quantität von Kokain und Olokain, die täglich dem Menschen eingespritzt werden konnte, war es nicht der Fall, sich mit dem verschiedentlichen Giftgehalt dieser beiden Stoffe zu beschäftigen.

Ich ging somit ohne weiteres zur Anwendung der Methode auf den Menschen über. Neben den Kelchgläschen, welche die Emulsion enthielten, hielt ich ein anderes Gläschen mit einer Kokain- oder Olokainlösung, die mit aller Vorsicht bereitet und aufbewahrt worden war. Nachdem die Spritze gefüllt war und bevor die Einspritzung vorgenommen wurde, wurden mit derselben 0,15—0,25 von gesagter Lösung aufgesaugt und man ging sofort zur Impfung über.

Um über die Wirksamkeit des Verfahrens urteilen zu können, wurden bei allen der Kur unterworfenen Personen bald Einspritzungen mit Kokain, bald solche ohne Kokain vorgenommen.

Fast alle, ohne die Modifikation in den Einspritzungen zu wissen, bemerkten beständig den Unterschied, und wir selbst bemerkten es im Augenblick der Einspritzung.

Die unschädliche und geringe Modifikation einmal eingeführt, ward nicht mehr aufgegeben und seit 3 Jahren ist dieselbe in Anwendung, ohne je einen Übelstand verzeichnet zu haben.

2. Anhang.

Dauer der Virulenz des in Glyzerin aufbewahrten fixen Virus, aus dem Institute zu Sassari, auf Nagetiere, die subkutan geimpft wurden.

Sowohl um die Dauer der Virulenz des längere Zeit hindurch in Glyzerin aufbewahrten und den Nagetieren auf subkutanem Wege eingeimpften fixen Virus aus dem Institute zu Sassari zu kennen, als auch um zu entscheiden, ob irgendein diesbezüglich mit dem mir aus anderen Pasteurschen Instituten zugesandten fixen Virus erhaltenes, negatives Resultat dem Aufenthalt des fixen Virus in Glyzerin, während der Reise, d. h. während einer Zeitdauer von 3—6 Tagen, zuzuschreiben sei, unternahm ich folgende Versuche.

In 50 ccm konzentriertes Glyzerin zu 1 : 2 und 1 : 4 legte ich Gehirnstücke von je 2 g Gewicht, welche einem an der Tollwut zugrunde gegangenen Kaninchen entstammten. Ich achtete darauf, stets denselben Teil des Gehirns zu wählen und brachte die verschiedenen Gefäſse in eine Temperatur von ungefähr 22°.

Nach 3—5—10—20—25 Tagen versuchte ich die Virulenz der verschiedenen Stücke vom Gehirn an Nagetieren, und zwar auf subkutanem Wege, indem ich die Versuche im ganzen auf 26 Tiere ausdehnte. Ich trug stets Sorge, den mittleren Teil des Gehirnstückes zu wählen.

In nachstehender Tabelle lasse ich die erhaltenen Resultate folgen.

Datum	Art der Versuchstiere	Inokulationswege		Verdünnung des Glyzerins	Dauer der Einwirkung des Glyzerins	Resultat: Anfang der Paralyse	Resultat: Tod
11. 5. 1906	1 weiſse Maus	subkutan	¹/₄ ccm	1 : 4	3 Tage	17. V. morgens	17. V. 5 Uhr abends
	»	»	»	1 : 4	3 »		
	»	»	»	1 : 4	3 »		
	»	»	»	1 : 4	3 »		
	»	»	»	1 : 4	3 »		
	»	»	»	1 : 4	3 »		
16. V. 1906	»	»	»	1 : 4	5 »	22. V. 8 Uhr abends	23. V. 9 Uhr morgens
	»	»	»	1 : 4	5 »		
	»	»	»	1 : 4	5 »		
	»	»	»	1 : 4	5 »		
	»	»	»	1 : 4	5 »		
	»	»	»	1 : 4	5 »		
18. V.	»	»	»	1 : 2	10 »		
18. V.	»	»	»	1 : 2	10 »		
24. V. 1906	»	»	»	1 : 4	19 »	29. V. morgens	29. V. 4 Uhr abends
	»	»	»	1 : 4	19 »		
	»	»	»	1 : 2	19 »		
	»	»	»	1 : 2	19 »		
	»	»	»	konzentr.	19 »		
	»	»	»	konzentr.	19 »		
1. VI. 1906	»	»	»	1 : 4	25 »		überlebt
	»	»	»	1 : 4	25 »		
	»	»	»	1 : 2	25 »		
	»	»	»	1 : 2	25 »		
	»	»	»	konzentr.	25 »		
	»	»	»	konzentr.	25 »		

Resultate.

1. Wie aus der zweiten, obenstehenden Tabelle hervorgeht, bewahrte das aus dem Pasteurschen Institut zu Sassari verwertete fixe Virus seine Virulenz auf subkutanem Wege den Nagetieren gegenüber ungefähr 20 Tage hindurch. Doch keines der in Glyzerin aufbewahrten Gehirnstückchen bewahrte seine Virulenz bis zum 25. Tage.

   Nach Rodet, Galavielle und Loir[1]) soll der Wutvirus hingegen beim subkutanen geimpften Kaninchen seine Virulenz sogar 2 Monate lang erhalten.
2. Die Inkubationsdauer schwankt zwischen 5—6 Tagen, sie wird also durchaus nicht verlängert.
3. Man nahm keinen Unterschied in der Inkubationsperiode wahr, gleichwohl, ob die Wirkungsdauer des Glyzerins sich auf 3 oder auf 20 Tage erstreckt hatte.
4. Man fand weder in der Widerstandsfähigkeit des Virus, noch in der Inkubationsperiode irgendeinen Unterschied, ganz gleich, ob das Virus in konzentriertem Glyzerin oder in verdünntem zu 1 : 2 und 1:4 aufbewahrt worden war.

1) Rodet et Galavielle, Bulletin de la charité de Biologie. Sitzung 5. Juni 1902.

Untersuchungen über die hämolytischen Eigenschaften des Blutserums abgekühlter und erwärmter Tiere.[1])

Von

Dr. **Max Lissauer**,

I. Assistent des Instituts.

(Aus dem patholog. Institut des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin. Prosektor: Prof. v. Hansemann. Vorsteher der bakteriologischen Abteilung: Dr. Töpfer.)

Durch umfassende Untersuchungen sind wir über die Art und Weise unterrichtet, wie sich im Organismus die Wärmeregulation vollzieht. Besonders Rubner hat diese Fragen durch sein Werk über die Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung geklärt. In zahlreichen Arbeiten ist versucht worden, das Wesen der Erkältungskrankheiten zu ergründen, und eine Reihe von Untersuchungen befafst sich mit der Art und Weise, wie Infektionen durch Erhöhung oder Erniedrigung der Temperatur beeinflufst werden. Im Gegensatz hierzu sind die Untersuchungen über die Veränderungen des Blutserums bei Abkühlung und Erwärmung des Organismus sehr spärlich.

Ich habe mich in einer Reihe von Versuchen mit dieser Frage beschäftigt.

---

1) Nach einem am 7. Juni 1907 in der Berliner physiolog. Gesellschaft gehaltenen Vortrage.

I. Versuche mit abgekühlten Tieren.

Die verschiedensten Theorien, gestützt auf sorgfältige Arbeiten, hat man aufgestellt, um eine Erklärung der Erkältungskrankheiten zu finden. Die älteste Theorie, die Retentionstheorie, nahm an, dafs im Organismus schädliche Stoffe durch Unterdrückung der Hautsekretion zurückgehalten würden. Auf sie folgte die Reflextheorie, nach welcher die Kältewirkung einen Reiz auf die sensiblen Hautnerven ausübt, worauf dann auf reflektorischem Wege krankhafte Störungen entstehen. In der bakteriologischen Ära glaubten dann die Anhänger der Infektionstheorie, dafs die Erkältungskrankheiten Infektionskrankheiten sind. Nach der heute am meisten verbreiteten Ansicht ist die Disposition der wesentliche ätiologische Faktor. Auf welche Weise dies aber geschieht und welche Veränderungen der Organismus dabei erleidet, ist eine noch ungelöste Frage.

Dafs die Abkühlung des Körpers bei der Entstehung von Infektionskrankheiten eine Rolle spielen kann, ist eine allgemein anerkannte Erfahrungstatsache. Auch experimentell ist wiederholt gezeigt worden, dafs abgekühlte Tiere eine erhöhte Disposition für Infektionskrankheiten haben. Es lag nahe, die modernen serologischen Untersuchungsmethoden bei diesem Gegenstand anzuwenden. Dies habe ich in einer hämolytischen Versuchsreihe getan, und will zunächst kurz die Technik des Versuches angeben.

Ich verwendete als Versuchstiere Kaninchen, deren Blutserum ich auf seine hämolytischen Eigenschaften gegen Hammelblutkörperchen untersuchte. Bei sämtlichen Kaninchen hatte ich die hämolytischen Eigenschaften durch intravenöse Injektion von Hammelblutkörperchen immunisatorisch gesteigert. Dem Versuchstier wurde nun Blut entnommen und das Blutserum durch halbstündiges Erwärmen bei 60° inaktiviert. Von diesem Blutserum stellte ich mir verschiedene Verdünnungen, in physiologischer Kochsalzlösung her, und zwar im Verhältnis 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und so weiter bis 1:2560. Zu 1 ccm dieser Lösungen setzte ich nun je 1 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von Hammel-

blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung und je 1 ccm frisches Meerschweinchenserum als Komplement. In je ein Kontrollröhrchen tat ich nur Kaninchen- und nur Meerschweinchenserum zusammen mit Hammelblutkörperchen. Dieses hämolytische System wurde nun 2 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten.

Auf diese Weise untersuchte ich 6 Tiere vor und nach der Abkühlung. Die Abkühlung erreichte ich dadurch, dafs ich die Tiere 3—10 Minuten in Wasser von ca. 10° C tauchte. Die Temperatur der Tiere, im After gemessen, fiel dadurch zum Teil sehr erheblich. Die Temperaturerniedrigung schwankt zwischen 2 und 8,5° C. Nur zwei von den Tieren blieben am Leben, die meisten gingen binnen 24 Stunden oder nach wenigen Tagen ein. Die Blutuntersuchung nahm ich teils sofort nach der Abkühlung, teils erst nach Stunden vor. Die Resultate habe ich in Tab. I zusammengestellt.

Tabelle I.

Kaninchen	Temperatur des Kaninchens °C	Wasser-Temperatur °C	Dauer der Abkühlung in Min.	Darauf Temperatur des Kaninchens °C	Vollkommene Hämolyse	
I.	38	10	5	31	a) vor der Abkühlung . . .	1 : 320
					b) unmittelbar nach d. Abkühl.	1 : 160
II.	38,5	10	10	30	a) vor der Abkühlung . . .	1 : 640
					b) unmittelbar nach d. Abkühl.	1 : 160
III.	38,1	11	7	32,2	a) vor der Abkühlung . . .	1 : 160
					b) unmittelbar nach d. Abkühl.	1 : 40
					c) 1 Stunde nach d. Abkühl.	1 : 20
IV.	37,5	10	3	35,5	a) vor der Abkühlung . . .	1 : 320
					b) unmittelbar nach d. Abkühl.	1 : 160
					c) 2 Stunden nach d. Abkühl.	1 : 20
V.	38,8	10	5	32,5	a) vor der Abkühlung . . .	1 : 160
					b) unmittelbar nach d. Abkühl.	1 : 40
					c) 3 Stunden nach d. Abkühl.	1 : 40
VI.	39,1	10	3	35,2	a) vor der Abkühlung . . .	1 : 640
					b) unmittelbar nach d. Abkühl.	1 : 640

Wie man sieht, fand sich nach der Abkühlung in fast allen Fällen eine teilweise sehr bedeutende Abnahme der hämolytischen Fähigkeiten. Nur einmal war nach der

Abkühlung keine Veränderung in dem hämolytischen Verhalten zu konstatieren. Ich stimme also vollkommen Nagelschmidt bei, welcher über denselben Gegenstand gearbeitet hat und ebenfalls beobachtet hat, dafs nach intensiver Abkühlung der Versuchstiere das Blutserum erheblich verminderte hämolytische Fähigkeiten zeigt. Nagelschmidt experimentierte hauptsächlich mit nicht immunisierten Tieren, ein Verfahren, welches ich für nicht so geeignet halte, weil die Ausschläge bei immunisierten Tieren naturgemäfs gröfser sind.

Ich weifs nun wohl, dafs so hochgradige Abkühlungen, wie ich sie zum Teil anwandte, im allgemeinen nicht den Erkrankungsfaktor im täglichen Leben repräsentieren. Indessen kommen sie doch vor, und ich glaube, dafs im Experiment extreme Verhältnisse angewendet werden können, bisweilen sogar müssen.

Nun lehrt aber die tägliche Erfahrung, dafs auch eine sehr geringe Abkühlung genügt, um die Prädisposition zu einer Infektionskrankheit zu schaffen. Rubner verdanken wir sorgfältige Untersuchungen über die Art und Weise, wie insensible Luftströmungen den Körper beeinflussen. Rubner fand, dafs Luftströmungen, welche man nicht mehr fühlt, doch objektive Wirkungen hervorbringen. Nach ihm summiert sich der Wärmeverlust allmählich so, dafs die Kälte doch schliefslich fühlbar wird. Er sagt: »Hier liegt also entschieden eine Anlage zu anormalen Zuständen vor, zu Abkühlungen über die Grenze des Gesunden hinaus, zu Entwärmungen, die tiefer greifen, als für den Ablauf der Lebensprozesse günstig ist. Im ganzen genommen handelt es sich dabei um Erscheinungen, welche den Modus der Zuglufterkältung uns recht deutlich vor Augen führen«.

Ein ungünstiger Ablauf der Lebensprozesse, eine Disposition des Körpers für Krankheiten wird geschaffen, wenn die natürlichen Schutzvorrichtungen des Organismus, die Abwehrstoffe, geschädigt werden. Meine Experimente, im Verein mit denen Nagelschmidts, zeigen, dafs dieses eintrifft, wenn der Körper intensiv abgekühlt wird. Nun zeigen aber die eben erwähnten Untersuchungen Rubners, dafs auch Luftströmungen, welche

nicht mehr wahrgenommen werden können, doch zu einer Abkühlung des Körpers führen, und ich glaube, dafs sich hierbei ähnliche Vorgänge abspielen können wie im Experiment. Denn die aufserordentlich fein abgestimmten Einrichtungen des Körpers können in Aktion treten, bzw. versagen, ohne dafs wir imstande sind, sie mit unseren Mitteln nachzuweisen. Für mich ist aber die Analogie mit dem Experiment zwingend.

II. Versuche mit erwärmten Tieren.

Nachdem so festgestellt war, dafs das Blutserum abgekühlter Tiere eine Verminderung der Hämolysine aufweist, lag es nahe, zu untersuchen, wie sich diese Stoffe bei erwärmten Tieren verhalten. Ich verfüge hier ebenfalls über eine Versuchsreihe von 6 Tieren. Die Technik des Versuches ist in allen Stücken die gleiche, wie die bei den Abkühlungsversuchen angewendete. Die Erhöhung der Temperatur der Versuchstiere, ebenfalls nur Kaninchen, deren Hämolysine immunisatorisch, gesteigert waren erreichte ich durch 2—10 Minuten langes Eintauchen der Tiere in heifses Wasser von 43°—49° C. Die Temperatur der Tiere stieg hierdurch um 3,4°—4,8°; 5 Tiere überlebten die Prozedur, während das sechste nach 2 Tagen einging. Auch hier wurde das Blut teils sofort, teils nach mehreren Stunden untersucht. Ich habe die Resultate in Tab. II (S. 336) zusammengestellt.

In allen Fällen zeigten die hämolytischen Eigenschaften des Blutserums eine deutliche, zum Teil sehr erhebliche Verstärkung. Es fragt sich nun, welche praktische Bedeutung diesen Versuchen zukommt.

Zunächst glaube ich, dafs die Resultate geeignet sind, bestimmte Erfahrungen zu ergänzen, welche wir schon seit langer Zeit über das Fieber besitzen.

Während eine Reihe älterer Autoren im Fieber eine schwere Schädigung des Organismus sehen, gab es doch schon in den ältesten Zeiten andere, welche entgegengesetzter Ansicht waren; ich erwähne Hippokrates, Sydenham und Boerhave. In neuerer Zeit ist besonders Liebermeister dafür eingetreten,

Tabelle II.

Kaninchen	Temperatur des Kaninchens ° C	Wasser-Temperatur ° C	Dauer der Abkühlung in Min.	Darauf Temperatur des Kaninchens ° C	Vollkommene Hämolyse.	
I.	39,3	48	10	42,8	a) vor der Erwärmung . .	1:640
					b) unmittelbar nach d. Erw.	1:2560
					c) 1 Stunde nach d. Erw.	1:2560
II.	39	49	5	42,6	a) vor der Erwärmung . .	1:40
					b) unmittelbar nach d. Erw.	1:640
III.	38,3	47	2	43,1	a) vor der Erwärmung . .	1:320
					b) unmittelbar nach d. Erw.	1:1280
					c) 3 Stunden nach d. Erw.	1:1280
IV.	38,7	43	5	42,6	a) vor der Erwärmung. . .	1:160
					b) unmittelbar nach d. Erw.	1:640
V.	38,6	45	10	42,6	a) vor der Erwärmung . .	1:640
					b) unmittelbar nach d. Erw.	1:2560
					c) 5 Stunden nach d. Erw.	1:2560
VI.	38,1	45	6	41,5	a) vor der Erwärmung . .	1:320
					b) unmittelbar nach d. Erw.	1:1280
					c) 7 Stunden nach d. Erw.	1:1280

das Fieber für etwas dem Körper Schädliches zu halten, und zwar beruht nach ihm die Hauptgefahr des Fiebers in der Temperatursteigerung an und für sich. Hiergegen wandten sich nicht nur eine Reihe bedeutender Kliniker auf Grund ihrer praktischen Erfahrung, wie Senator, Naunyn, Heubner und Unverricht. Wir verfügen auch über eine Reihe sorgfältiger Tierexperimente, welche den Einfluſs erhöhter Temperatur auf den Verlauf von Infektionskrankheiten untersuchen.

Zuerst hat Walther festgestellt, daſs Kaninchen, welche mit Pneumoniebazillen infiziert worden waren, die Infektion leichter ertrugen, wenn sie im Wärmeschrank auf 40—42° erwärmt wurden. Rovighi bestätigte dies an Kaninchen und Meerschweinchen, welche mit den verschiedensten Infektionserregern infiziert worden waren, und konstatierte zugleich, daſs Abkühlung die Tiere gegen Infektionen weniger widerstandsfähig macht. Lode und Dürck gelangten zu ähnlichen Resultaten.

Aber nicht nur gegen Bakterien werden die erwärmten Tiere widerstandsfähiger, sondern auch gegen Gifte, wie die Versuche Dochmanns an Katzen zeigten, welche mit Curare, und die

Experimente Hildebrandts an Tieren, welche mit Fermenten vergiftet waren. Auch Loewy und Richter erhöhten die Temperatur von Kaninchen durch einen Stich in das Korpus striatum auf 41,5° bis über 42,0°, und sahen dann Infektionen mit verschiedenen Krankheitserregern sowie auch mit Diphtherietoxin leichter verlaufen. Ich glaube nun, dafs es gleichgültig ist, ob die Temperatur des Blutes durch innere Ursachen erhöht wird, wie im Fieber, oder durch äufsere, wie in meinen Experimenten.

Ich nehme an, dafs durch die Erwärmung des Körpers die Antikörper vermehrt sind, wodurch, wie ich glaube, auch die Art und Weise, wie das Fieber den Körper beeinflufst, erklärt werden kann.

Hiermit stimmen auch gut die Versuche von Töpfer und Jaffé überein; sie konnten zeigen, dafs Typhuskrankensera die stärkste bakterizide Einwirkung auf Typhusbazillen im Reagenzglase aufwiesen, während die von Rekonvaleszenten, also dann, wann das Fieber abgelaufen war, ferner von Schutzgeimpften und hochimmunisierten Tieren, einen weit geringeren Titre hatten.

Aber nicht nur mit dem Fieber glaube ich meine Versuche in Verbindung bringen zu können, sondern auch mit bestimmten ärztlichen Mafsnahmen. Wie ich dem Lehrbuch über klinische Hydrotherapie von Matthes entnehme, werden heifse Bäder zu therapeutischen Zwecken in Temperaturen von 37—45° gegeben. Nun steigt nach Bälz im heifsen Bad von 40° C die Temperatur in 10 Minuten ca. um 1°; im heifsen Bad von 45° C steigt sie in 10 Minuten auf 39—40°. Ich glaube, dafs hierbei die Schutzstoffe des Körpers vermehrt werden und dafs auf diese Weise der Körper im Heilungsprozefs unterstützt wird. Ich nehme an, dafs ähnliche Vorgänge bei Schwitzkuren eine Rolle spielen.

So habe ich denn die Vorstellung, dafs die Erhöhung oder Herabsetzung der Disposition, wie sie Abkühlung bzw. Erwärmung des tierischen Organismus zur Folge hat, auf einer Vermehrung bzw. Verminderung der im Körper vorhandenen Schutzstoffe beruht. Ich glaube, dafs weitere nach dieser Richtung

hin unternommene Untersuchungen ähnliche Verhältnisse auch bei anderen im Organismus sich abspielenden Vorgängen ergeben werden.

Literatur.

Nagelschmidt, Beiträge zur klin. Medizin, 1904.
Rubner, Archiv f. Hygiene, Bd. 50.
Walther, Archiv f. Hygiene, Bd. 12.
Rovighi, Prag. med. Wochenschr., 1892, Nr. 26.
Dochmann, Wiener med. Wochenschr. 1889.
Hildebrandt, Virchows Archiv, Bd. 121.
Loewy u. Richter, Virchows Archiv, Bd. 145.
Bälz, zit. nach Schalle. Diss. Freiburg 1906.

Über das Verhalten des bakteriziden Vermögens der Lungen gegenüber einigen Ursachen, die dasselbe zu modifizieren vermögen.

Experimental-Untersuchungen

von

Dr. **Enrico Ronzani**, Assistent.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Padua.)

Bis vor wenigen Jahren glaubte man, dafs die eingeatmete Luft infolge der Filtration, die sie beim Passieren der ersten Atmungswege zu erleiden hatte, keimfrei in die Lungenalveolen gelange und dafs deshalb die gesunden Lungen im wahren Sinne des Wortes ein von Mikroorganismen freies Organ seien.

Eine Stütze für diese Theorie boten die Beobachtungen Weichselbaums, von Babes u. a., welche in den Lungen von gesunden Menschen, die einer tödlichen Verletzung zum Opfer gefallen waren, niemals Mikroorganismen vorfanden, und ebenso jene von Hildebrandt, Neifser, Klipstein und Göbell, die in den gewöhnlichen Versuchstieren (Kaninchen, Mäuse) nur selten Keime antrafen, deren Gegenwart man dann unvermeidlichen technischen Irrtümern zuschreiben wollte. Dürck war der erste, welcher feststellte, dafs die Lungen in Wirklichkeit kein keimfreies Organ darstellen, sondern dafs sich selbst in den feinsten Alveolen die Mikroorganismen in beachtenswerter Menge vorfinden können.

Dieses Studium wurde dann von Barthel, von Beco, von Boni, von Nenninger und von Gneusel wieder aufgenommen, aus deren Erfahrungen man schliefsen kann, dafs, wenn auch ein sehr grofser Teil der in der Luft frei schwebenden und eingeatmeten Keime von der Nase, dem Pharynx, dem Larynx und den weiten Bronchien, dank ihrer besonderen Konstitution zurückgehalten wird, immerhin ein kleiner Teil, der im Verhältnis steht zur Zahl der in der Luft enthaltenen Keime, in die Alveolen gelangt. Die Art, wie dieses Eindringen erfolgt, wurde in besonderer Weise von Buchner, von Flügge, von Königer und von Paul studiert, welche, wenn auch unter verschiedenen Verhältnissen experimentierend, zum Schlusse kamen, dafs die Keime in die Lungen eindringen, da sie sich an sehr feine flüssige und feste Partikelchen anhaften, welche vom Luftstrom fortgetragen werden.

Von denselben Beobachtern wurde ferner die sehr wichtige Tatsache bemerkt, dafs die in die Lungen eingedrungenen Mikroorganismen schnell zum Verschwinden gelangen; in der Tat fanden sie, dafs kurze Zeit nach der Versuchsinhalation eines gegebenen saprogenen Keimes dieser sich nicht mehr in den Lungen befindet, eine Tatsache, welche uns erklärt, warum die ersten Forscher unter gewissen Verhältnissen die Lungen frei von Mikroorganismen fanden.

Auf Grund dieser Feststellungen hat man also zugeben müssen, dafs die Lungen über Verteidigungsmittel gebieten, welche imstande sind, die in sie eingedrungenen Keime in kurzer Zeit abzutöten oder zu entfernen.

Sehen wir nun, welche Kräfte es sind, mit denen die Lungen sich von diesen Keimen freizumachen oder dieselben zu vernichten vermögen.

Aus den Arbeiten von Ins, Arnold u. a. wufste man, dafs die in die Lungen gedrungenen Staubteilchen zum grofsen Teil von besonderen Zellen eingekörpert wurden, die man damals Staubzellen hiefs und von denen Ins und Slavjansky annahmen, dafs sie von den Leukozyten herrührten, da sie denselben ähnelten, während Ruppert und Fleiner hingegen

epithelialen Ursprung annahmen und schliefslich Arnold und Schottelius zur Annahme des einen wie des andern Ursprunges hinneigten, d. h. zu derjenigen, dafs die grofsen Zellen epithelialen Ursprunges wären, die kleineren hingegen auf lymphoider Basis entständen.

Nachdem sich diese neue Frage für die Bakteriologie auftat, diejenige nämlich, festzustellen, welchen Kräften das Verschwinden der in die gesunden Lungen eingedrungenen Keime zu verdanken sei, fehlte es nicht an Autoren, die ihren Beitrag in einer so wichtigen Sache zu bieten hatten, die die Funktionen aufdecken soll, welche die Lungen im Hinblick auf die Entwicklung vieler Infektionskrankheiten haben. Die diesbezüglichen Versuche wurden an den gewöhnlichen Laboratoriumstieren vorgenommen.

Heck, der seine Versuchstiere den Staphylococcus pyogenes aureus einatmen liefs und sie dann nach einer gewissen Zeit, die er nach der Inhalation verstreichen liefs, opferte, fand bei den Lungensektionen, dafs die Epithelialzellen und die Leukozyten sich einen sehr grofsen Teil der Staphylokokken einverleibt hatten, und dafs deshalb diesen beiden Elementen das Verschwinden der Keime aus den Lungen zuzuschreiben ist.

Eine analoge Tatsache wurde von Muskatblüt beim Milzbrandbazillus beobachtet. Lähr fand hingegen bei Einführung von Staphylokokkuskulturen in die Trachea von Kaninchen nach einigen Stunden bei der Lungenprüfung alle Kokken nur von den Epithelialzellen eingeschlossen, innerhalb welcher die Kokken selbst eine rückschreitende Umwandlung erlitten und schliefslich zum Verschwinden gebracht wurden.

Ribbert sah anderseits, mit den Sporen von Aspergillus flavescens arbeitend, allein die Leukozyten in den Lungenalveolen und in den Kapillargefäfsen, wo sie diese Sporen umgaben und deren Entwicklung hintanhielten.

Schliefslich beobachtete Buchner, der viele Beobachtungen in dieser Beziehung machte und viel Licht in die Theorie von der Immunität und der Verteidigung des Organismus im Hinblick auf die infektiösen Krankheiten getragen hat, dafs in

den Lungen der Mäuse, in die er den Bazillus der Hühnercholera hatte eindringen lassen, diese Bazillen von den Leukozyten und nicht von den Epithelialzellen eingekörpert wurden.

Aus den verschiedenen Beobachtungen der zitierten Autoren ergibt sich also, dafs wenn sie auch in der Annahme einer keimzerstörenden Macht von seiten der Lungen einig sind, doch Abweichungen in der Feststellung der Elemente, denen solche Funktion zukommt, bestehen. Es scheint jedoch, dafs Tchistovitch, durch Beeinflussung Metchnikoffs, das Problem wenn nicht völlig gelöst, so doch in klareres Licht gerückt habe. Aus seinen Versuchen ergibt sich, dafs nach erfolgtem Eindringen von Keimen in die Lungen die Erstherbeieilenden die Leukozyten sind, die bei ihrem späteren Hyperthrophisieren sich in umfängliche Makrophagen von epithelialer Form und mit eminent phagozytischen Eigenschaften umwandeln, ein Grund, der, entsprechend den verschiedenen Beobachtungsperioden, die früheren Autoren bald glauben liefs, dafs nur die Leukozyten fähig seien, sich die Keime einzuverleiben, bald hingegen den Epithelialzellen und bald diesen wie jenen zugleich solche Aufgabe zuschoben, die letzteren Zellen als von anderer Natur denn die ersteren betrachtend, während dieselbe gemäfs unserem Autor eine und dieselbe ist. Solche Umwandlung in den Lungen erfolge schnell, dank besonderer Verhältnisse des Alveolar-Epithels.

Schliefslich haben wir die jüngsten Versuche von Paul, welcher festzustellen suchte, ob die schnelle Verminderung der in die Lungen gedrungenen Keime wirklich durch Zerstörung derselben mittels phagozytischer Tätigkeit unter Mitwirkung der anderen biochemischen Aktionen erfolge oder durch Transport mittels der lymphatischen Strömung in die benachbarten Ganglien, wie von vielen anderen Autoren angenommen worden war.

Er führte seine Versuche in anderer Weise als seine Vorgänger aus. So sah er vor allem, dafs, wenn er Kaninchen flüssige Kulturen des B. prodigiosus einatmen liefs und in einigen sofort, in anderen aber nach etlichen Stunden die Zahl

der in die Lungen der verschiedenen Kaninchen eingeatmeten Keime festzustellen suchte, in den zuletzt untersuchten Tieren eine bedeutende Verminderung der Bazillenzahl bestand.

Auf Grund dieser Ergebnisse wollte er sehen, wie sich die Sache gestalte, wenn er die Kaninchen anstatt des B. prodigiosus Sporen des B. subtilis einatmen lasse, die, wie man aus den Arbeiten von Wisokowicz weifs, sich im tierischen Körper nicht entwickeln; ob die letzteren mit der gleichen Schnelligkeit wie der B. prodigiosus aus den Lungen verschwinden würden, welcher Umstand, wenn er in Erscheinung treten würde, den Beweis liefere, dafs dem Lymphstrom die Entfernung der Keime aus den Lungen zukomme; während, wenn sich die Sporen noch nach einer gewissen Zeit in den Lungen vorgefunden hätten, nicht mehr von einer einfachen Entfernung der Keime die Rede sein könnte, sondern von einer zerstörenden Wirkung der Lungen in Sachen der Mikroorganismen, Wirkung, die sich auf die Sporen nicht zu äufsern vermochte.

In der Tat fand er, dafs während beim ersten Versuch, 17 Stunden nach der Einatmung, die eingeatmeten B. prodigiosus fast völlig aus den Lungen verschwunden waren, von den Sporen des B. subtilis, nach 24 Stunden, in den Kulturen, über die Hälfte der zur Einatmung gelangten ihre Entwicklung fanden. Er kam deshalb zum Schlusse, dafs die schnelle Verminderung der eingeatmeten Keime, die sich in den Lungen vollzieht, besonders der zerstörenden Kraft zukommt, welche den Lungen selbst innewohnt, und dafs nur zum kleinen Teil der Lymphstrom mitwirkt, da nur eine kleine Anzahl von Keimen in den peribronchialen Lymphdrüsen angetroffen wurde.

Aus den bislang gesammelten Daten ergibt sich also klar genug, dafs die gesunden Lungen über ein Verteidigungsvermögen gegen die Keime verfügen, welch letztere zum grofsen Teil an Ort und Stelle von besonderen biochemischen Aktionen zerstört werden, die noch nicht völlig bekannt sind, unter denen aber sicherlich die Phagozytose und die bakteriziden Substanzen des Blutes den ersten Platz haben.

Aber ist dieses Verteidigungsvermögen eine beständige und andauernde Äufserung des Organismus oder erleidet es unter besonderen Verhältnissen der Umgebung vielmehr Umwandlungen in seiner Wesenheit, derart zwar, dafs es an Wert einbüfst, dafs ihm seine obenerwähnte wohltätige, schützende Eigenschaft geschädigt bzw. teilweise genommen wird?

Dies ist der Gegenstand meiner Nachforschungen und zwar: Direkte Nachforschung im Lungenbereich, welche Wandlungen solches Schutzvermögen erleidet, indem die Tiere etwelchen anormalen Bedingungen allgemeiner Natur unterworfen werden, welchem der Organismus leicht ausgesetzt werden kann. Die anormalen Bedingungen, denen ich die Tiere unterwarf, sind die folgenden:

1. Kälte;
2. schnelle Temperaturübergänge;
3. Wärme;
4. Bad;
5. Ermüdung;
6. Traumen;
7. Inhalationen von verschiedenem Staub;
8. akuter und chronischer Alkoholismus.

Natürlich waren diesen Dingen auch Untersuchungen beizufügen, inwieweit in den von mir gewählten Tieren (Meerschweinchen) im physiologischen Zustande und in normalen Verhältnissen der Umgebung das Verteidigungsvermögen der Lungen gegen einen zu diesem Behufe gewählten Keim ausreicht, da die Untersuchungen Pauls, deren ich teilweise vorhin gedachte, und die sich besonders in dieser Richtung betätigen, nur am Kaninchen vorgenommen wurden.

Die Wahl des Tieres und die zu gebrauchende Technik, um mich vor den zahlreichen Kritiken sicherzustellen, war im Angesichte der Schwierigkeit der Untersuchungen sicherlich nicht die kleinste Sorge bei diesen meinen Experimenten.

Ich klügelte, soweit es mir möglich war, alle denkbaren Mittel aus, um die vielen Operationen einfacher und schneller zu gestalten, ohne nach der einen Seite hin zu übertreiben, noch nach der andern hin zu fehlen.

Die von mir in Gebrauch genommenen Tiere waren die Meerschweinchen, und die Technik allgemeiner Natur ward in folgender Weise gehandhabt:

Die Operationen, die ich für jede Versuchsreihe vorzunehmen hatte, waren vor allem die folgenden:

1. Die Tiere mit der Luft überaus feine Tröpfchen von Bouillonkultur des im Stadium befindlichen Keims inhalieren zu lassen.

2. Das Tier nach einer gegebenen Zeitperiode zu töten und die quantitative Nachforschung der Zahl der noch in den Lungen befindlichen Keime vorzunehmen, zu welchem Zwecke nötig war:

a) in der schnellstmöglichen Weise die zu prüfenden Lungenstücke herauszunehmen,
b) das Volumen zu bestimmen und das Kleinschneiden zu besorgen,
c) die Plättchen vorzubereiten,
d) das Zählen der Kolonien vorzunehmen und die gefundene Keimzahl auf 1 ccm Lungen festzustellen.

Für die erste Operation diente mir meine Inhalationskassette, welche ich in meiner früheren Arbeit über die Tätigkeit des Kohlenstaubes auf die Mikroorganismen beschrieb. (Annali d'Igiene sperimentale 1905.)

Eine derartige Kassette bietet gegenüber anderen Methoden und Apparaten für die Einpflanzung von Keimen in die Atmungswege den Vorteil, zu verhindern, dafs das Eindringen der pulverisierten Keime auf anderen als den Luftwegen erfolge, sogar den Mund ausschliefsend, da dieser eine gemeinsame Eingangspforte für die Atmungs- und Verdauungsorgane darstellt. Mit solchem Apparat vermochte ich, da das Maul der Versuchstiere dabei nicht infiziert wurde, die Gefahr zu vermeiden, dafs während der überaus kurzen Agonie der Tierchen einige Keime, die sich eventuell im Maule befinden könnten, in die Lungen gelangten; ein durchaus mögliches Eindringen, wie es experimentell Klipstein und Göbell bewiesen, womit den

Versuchen Dürcks, Bonis u. a. kritisch zu Leibe gegangen ward.

Die an meiner Kassette behufs dieser neuen Art von Versuchen vorgenommenen Veränderungen waren die folgenden:

Die Zahl der Tiere, die sie aufzunehmen vermochte, wurde erhöht und an ihrem oberen Teil wurde eine dicke gekrümmte Metallröhre angebracht (25 mm Durchmesser), um in sie die Luft einzuführen, welche mit den winzigen Tröpfchen beladen war, in denen sich die für die Einpflanzung bestimmten Keime befanden. Diese Röhre wurde an einem Ende gut an das Kistchen befestigt, während sie mit dem andern in den Hals einer grofsen Flasche von etwa 10 l Raumgehalt eindrang, innerhalb welcher die Kultur verstäubt wurde. Die Flasche besafs aufser der oberen Öffnung noch eine an der unteren Seite, durch welche eine Glasröhre und ein gewöhnlicher Verstäuber mit dem Inhalt von 150 ccm Bouillonkultur von 36 Stunden des B. prodigiosus Zugang hatten; diese Öffnung wurde hermetisch geschlossen, sobald der Verstäuber in Tätigkeit war.

Von aufsen setzte ich den Verstäuber selbst mittels einer Gummibirne unter beständigem Strom in Betrieb und mittels einer kleinen metallischen Pumpe, die in Verbindung stand mit der kleinen, in die Flasche eindringenden Glasröhre, vermochte ich den Druck in ihr leicht zu erhöhen, derart zwar, dafs durch die Röhre hindurch in das Kistchen nur die winzigen Tröpfchen der Bouillonkultur getrieben wurden, d. h. zum grofsen Teil nur jene, die, wie Flügge, Buchner, Königer und Paul gezeigt haben, bis in die Lungenverzweigungen zu gelangen vermögen.

Ich werde sofort die Gründe angeben, die auch mich dazu führten, den B. prodigiosus für meine Versuche zu wählen.

Vor allem mufste ich mit einem saprogenen Mikroorganismus experimentieren und ihm nach Ablauf einer gewissen Zeit in den Lungen der Tiere nachforschen, in denen sich ev. auch andere Keime vorfinden konnten.

Deshalb setzte mich der B. prodigiosus um seiner Eigenschaft willen, in den gewöhnlichen Kulturmitteln ein schönes rotes Pigment zu ergeben, in die Lage, ihn leicht festzustellen;

und dies um so mehr, als solcher Keim nach Passierung der Lungen der Meerschweinchen ein überaus bedeutendes chromogenes Vermögen erwirbt, auch wenn dieses Vermögen zu Anfang gering gewesen wäre. Und aufserdem entwickelt sich der B. prodig. auch leicht bei 37° C und, wenn nicht pathogen inokuliert, in mäfsigen Mengen pafst er sich leicht den tierischen Organen an.

Ich wählte Meerschweinchen von nahezu dem gleichen Gewicht, die in das Kistchen eingeführt wurden, in das ich die winzigen Tröpfchen von Bouillonkultur des B. prodigiosus auf die Dauer von 20 Minuten gelangen liefs, worauf ich sie herausnahm und innerhalb festgesetzter Zeitpunkte tötete.

Die Autopsien wurden in Lokalen vorgenommen, die völlig von denen getrennt waren, in denen die Inhalationen vorgenommen wurden, und der Operierende wechselte die Kleidung und schritt zu sorglicher Reinigung der Hände.

Für jede Autopsie wurde das Meerschweinchen vor seiner Tötung auf der unteren Brustregion sorglich durch Rasieren aller Haare befreit, in seiner Haut desinfiziert und dann mit einem energischen Nackenschlage geopfert. Dann wurde dasselbe auf einen Seziertisch gelegt, von vorn nach hinten um 45° geneigt, derart zwar, dafs es, dort ausgestreckt, mit dem Kopfe nach unten und dem hinteren Teil des Körpers erhöht verbliebe, um zu verhindern, dafs das eventuale und eingeatmete Keime enthaltende Bronchialsekret während der überaus kurzen Zeit der Operation in die tieferen Teile hinabsteige. Schliefslich extrahierte ich nach schneller Blofslegung der Haut und Öffnung der Thoraxhöhle mit wenigen Scherenschnitten in wenigen Sekunden nach dem Tode mit allen Normen der Asepsis die Lungenstückchen, deren ich mich für meine Untersuchungen bedienen wollte.

Paul entfernte, um sich vor der einigen seiner operierenden Vorgänger gemachten Kritik sicherzustellen, dafs während der Agonie des Tieres in den Einatmungen des Todeskampfes Keime aus dem Munde und den oberen Luftwegen in die inneren Verzweigungen einzudringen vermöchten, die für die Untersuchung nötigen Lungenstückchen aus dem noch lebenden Tiere.

Auch ich wollte, mit der von mir gebrauchten Methode schon verhindernd, dafs der B. prodigiosus in das Maul der Meerschweinchen gelange, vor Beginn meiner Untersuchungen sehen, ob es angezeigter gewesen wäre, die Lungenstückchen dem lebenden Tiere zu entnehmen, wie es Paul getan hatte, oder dies sogleich nach dem Tode zu tun. Zu diesem Behufe experimentierend, entdeckte ich, dafs beim Operieren am lebenden Tiere, soviel man sich auch mit den verschiedensten Mitteln bemüht, dies zu verhindern, das Tier schreit, um sich schlägt, Schluckbewegungen macht, alles Dinge, die das Hinuntergleiten von Keimen aus den oberen Luftwegen in die unteren weit mehr begünstigen, als dies durch eine etwaige agonische Einatmung erfolgt, welche in den kleinen Tieren oberflächlich und von überaus kurzer Dauer, dabei auch sehr selten ist. Aus diesen Gründen entschlofs ich mich, die zu prüfenden Lungenstückchen dem kaum getöteten Tiere zu entziehen, die Operation, wie gesagt, in einigen Minuten nach dem Tode zu Ende führend.

Die in Prüfung genommenen Lungenstückchen waren für jedes Tier immer die gleichen und zwar: der Apix der rechten Lunge, ein Stück des unteren rechten Lappens, zur Hälfte dem Lappen mit grofser Bronchie entnommen, schliefslich ein Stück der Base des unteren linken Lappens.

Bei der quantitativen Feststellung der Keime, die sich in diesen Lungenstücken befanden und der Berechnung der Zahl dann für 1 ccm derselben Lungen schien es mir überaus nötig, von Fall zu Fall, dafs ich die Extraktion vornahm, zur genauestmöglichen Bestimmung des in Prüfung genommenen Volumens zu schreiten; überzeugt, dafs nur in dieser Weise vergleichende Schlüsse aus den mittels der Prüfung der zahlreichen Stücke verschiedener Tiere gewonnenen Resultaten gezogen zu werden vermöchten.

Paul, Memminger u. a. begnügen sich, nur annähernd die Gröfse des in Beobachtung befindlichen Lungenstückes festzustellen, unter Vergleichung desselben mit bekannten Körpern wie Erbsen, Bohnen usw. und nur selten zur Wage greifend,

um nur zuweilen eine annähernde Idee vom Gewichte ihrer Stücke zu haben.

Der Gebrauch der Wage schien mir übrigens für eine derartige Feststellung durchaus nicht der praktischeste, sei es wegen der zahlreichen Manipulationen, die man hätte machen müssen, um das Stück vor Verunreinigungen zu bewahren, sei es, weil das genaue Abwägen eine lange Operation ist, weshalb man sowohl Irrtümer in einem anderen Sinne hätte haben können als auch der Zeitverlust bedeutender geworden wäre, wenn man die grofse Zahl der von mir geprüften Stücke (ca. 1000) bedenkt.

Für alles das habe ich also ein Verfahren ausgeklügelt, das nach meinem Dafürhalten, aufser einfach zu sein, erlaubt, das Volumen des in Prüfung befindlichen Stückes festzustellen und zugleich die Zermalmung ohne weitere Übertragungen vorzunehmen, dergestalt die leichtmöglichen Verunreinigungen vermeidend, die man haben kann, wenn man diese letztere Operation mit den gewöhnlichen sterilen Mörsern vornimmt. In der Tat ist der Gebrauch des Mörsers für die Zermalmung der Organe, die in steriler Weise vorzugehen hat, um Zwecke der bakteriologischen Nachforschungen willen, weder praktisch noch sicher, weil es bei den Bewegungen, die man dem Stampfer zu geben hat, um seinen Zweck zu erreichen, unmöglich ist, den Mörser gut bedeckt zu halten, und zudem gleitet das Organ, zumal wenn es ein wenig widerstandsfähig ist, mit Leichtigkeit unter dem Stampfer hinweg und es gelingt nur mit grofser Mühe, dasselbe zu zerquetschen und in Brei umzuwandeln. Die von mir gebrauchte Methode war die folgende:

»Ich nahm gewöhnliche Glaszylinder von der Raumfähigkeit von ccm, 5, 10, 15 je nach der Gröfse des zu prüfenden Stückes, auf $^1/_{10}$ oder besser noch $^1/_{20}$ ccm abgestuft.

Ich führte in dieselben eigens von mir konstruierte Stampfer, die aus kurzen zylindrischen Glasstücken von einem Durchmesser, der wenig mehr als die Hälfte des Durchmessers der als Rezipienten dienenden Zylinder betrug, bestanden, und die Base nach unten gewendet hatten, eine glatte Base mit scharfen Rändern, während die obere abgerundet war und einen gut befestigten,

feinen, aber dauerhaften Stahlaufsatz trug, der lang genug war, um aus den abgestuften Zylindern um 7 oder 8 cm herauszuragen. Die Öffnung der letzteren wurde mit einem Baumwollpfropfen verschlossen, den der Aufsatz des obenerwähnten Stampfers durchquerte.

Nach derartiger Vorbereitung führte ich in sie 1 oder 2 ccm destillierten Wassers ein und nach Hebung des Stampfers vom Grunde bis dafs er die Flüssigkeit nicht mehr berührte, wurde sie behufs Sterilisierung in die Autoklave gebracht.

Im Moment des Gebrauches las ich auf der äufseren Skala des Zylinders die Höhe ab, bis zu der das Wasser in seinem Inneren gelangte und während ich das zu prüfende Lungenstück mit sterilen Instrumenten in der obenbezeichneten Weise zerschnitt, entnahm ein Assistent, den Zylinder in 45° Neigung haltend, den Stöpsel samt eingeführtem Stampfer, liefs mich schnell das Organstückchen einführen, das untergetaucht wurde, und verschlofs, dabei immer Sorge tragend, dafs der Stampfer oberhalb des Wassers verbliebe, das Gefäfs. Ich las von neuem die Höhe ab, in der die Flüssigkeit danach gelangte und, die Differenz zwischen den beiden Ablesungen ziehend, erhielt ich das Volumen des Organs. Darauf ging ich zu dessen Zermalmung über, welche mittels Bewegungen in perpendikulärem und zirkularem Sinne von seiten des Stampfers vorgenommen wurde, welcher an dem aus dem Stöpsel herausragenden metallischen Aufsatz gehalten ward. Zu Anfang hatte ich mir in der Annahme, dafs die Lungen wegen ihres Luftgehaltes nicht gut im Wasser eingetaucht blieben, vorgenommen, sie mit dem Stampfer niederzuhalten, nach vorausgegangener Bestimmung des Volumens desselben; aber in der Praxis sah ich, dafs die verschiedenen Stücke, wenn sie auch nicht vollständig untergingen, immerhin jedoch stets im Wasser eingetaucht blieben und nur selten hatte ich ein derartiges Vorgehen nötig.

Auf diese Weise gelang es mir immer in kurzer Zeit, mit dem im Zylinder enthaltenen Wasser eine Art Emulsion zu erhalten, mit der ich die Plättchen machte, zuvor den Inhalt jedes Zylinders in drei Petrische Schachteln verteilend und dann den-

selben mit anderem sterilen Wasser mischend, den ich seinerseits in eine vierte Schachtel füllte.

Zu Anfang machte ich auch mit dem Zylinder nach der erneuten Bewässerung ein zusammengerolltes Plättchen à la Esmarch nach vorausgegangener Einführung von Agar in denselben, da ich aber in der Folge sah, dafs sich die meisten der Keime nicht entwickelten, unterliefs ich um der Zeitersparnis willen diese Operation.

Die derart bereiteten Plättchen wurden in einem Thermostaten bei 35° C gehalten, einer Temperatur, bei der sich der B. prodigiosus prächtig entwickelt.

Nach 24 oder 48 Stunden schritt ich zum Zählen der Kolonien mit den gebräuchlichen Methoden vor, und die in den 4 Plättchen für jedes Organstück gefundene Gesamtzahl (das Volumen der Stücke war mir bereits bekannt) wurde auf 1 ccm Lungen berechnet; und da ich für jedes Tier drei Lungenstücke prüfte, machte ich dann einen Gesamtdurchschnitt der Zahl der Keime pro ccm, wie sich klar aus der folgenden Tabelle ergibt. (S. 353).

Überzeugt, dafs ein solches Studium nur vorteilhaft sein könne, wenn man die Versuche an einer grofsen Anzahl von Tieren macht und die Versuche an verschiedenen Serien derselben wiederholt, unternahm ich meine Experimente an etwa 300 Meerschweinchen einschliefslich der Vorversuche, mit denen ich einige individuelle Verschiedenheiten entfernen wollte, die sich stets bei derartigen Untersuchungen ergaben.

Verteidigungsvermögen der Lungen gesunder Meerschweinchen in normalen Umgebungsverhältnissen.

Diesbezügliche Untersuchungen, vorgenommen, um festzustellen, in welchem Mafse die Zerstörung der Mikroorganismen innerhalb der Lungen der gesunden Tiere stattfinde, wurden, wie ich schon früher sagte, von Paul gemacht, der mit Kaninchen experimentierte und zum Schlusse kam, dafs die Lungen der Kaninchen $1\frac{1}{4}$ Stunden nach der Inhalation fähig seien, $\frac{9}{10}$ der in sie eingedrungenen B. zu vernichten und nach $17\frac{1}{2}$ Stunden fast alle.

Meine Untersuchungen wurden hingegen an den Meerschweinchen (28 Stück) vorgenommen und die respektiven Resultate sind mit all den nötigen Daten in der Tabelle I zusammengefafst, wobei ich bemerke, dafs die zwischen den Stunden 16 und 28 in der I. Versuchsreihe bestehende Lücke den vorgerückten Stunden der dazwischen liegenden Nacht zu verdanken ist, und dafs in der zweiten die Nachforschung zugleich an zwei Tieren vorgenommen wurde, um derart die individuellen Verschiedenheiten klarstellen zu können und somit ein genaueres Kriterium über die Art zu haben, wie die verschiedenen Ergebnisse in der Folge auszulegen seien.

Aus den Ergebnissen der in den erwähnten und dieser Ausarbeitung angeschlossenen Tabellen dargelegten Nachforschungen scheinen sich mir die folgenden Schlüsse zu ergeben:

I. Dafs eine grofse Anzahl von Mikroorganismen mit der eingeatmeten Luft in die Lungen der Meerschweinchen eindringen kann, wie von vielen andren Autoren bei anderen Tieren beobachtet wurde.

II. Dafs die Zahl der in die Lungen eingedrungenen Mikroorganismen schnell bis zum völligen Verschwinden innerhalb 48 Stunden abnimmt; dafs folglich die Lungen sofort nach dem Eindringen der Mikroorganismen in dieselben energisch dagegen reagieren, mit einer Reaktion, die allmählich abnimmt, ohne jedoch völlig zu verschwinden.

III. Dafs im allgemeinen alle Teile der Lungen gegen die inhalierten Mikroorganismen fast gleichermafsen reagieren, da sich keinerlei beständige Differenz weder von seiten des Apix der rechten Lunge noch vom unteren rechten Lappen, noch von seiten der Base der linken Lungen bemerkbar gemacht hat.

(Ich will hier nicht in die Natur des Verteidigungsvermögens der Lungen gegen die Keime eintreten; vermutlich ist dasselbe, wie ich auch schon anderswo zu sagen Gelegenheit hatte, einem Komplex von Faktoren zu verdanken, als da sind Phagozytose, bakterizides Vermögen des Blutes, Sekret des Lungenepithels,

Tabelle I.

Verteidigungsvermögen der Lungen von gesunden Meerschweinchen in normalen Umgebungsverhältnissen.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
Versuch Ia. 26. Dezember 1905.											
Meerschw. Nr. 1	Sofort nach der Einatmung	0,1	1804	18040	0,2	5016	25080	0,3	5510	18366	20495
» » 2	Stunden 4	0,2	148	740	0,3	3588	11960	0,3	2220	7400	6700
» » 3	» 8	0,2	90	450	0,3	720	2400	0,2	70	350	1061
» » 4	» 12	0,3	88	293	0,4	42	105	0,4	91	227	208
» » 5	» 12	0,2	43	215	0,3	116	386	0,2	54	270	290
» » 6	» 16	0,15	25	166	0,2	20	100	0,2	54	270	178
» » 7	» 28	0,2	15	75	0,4	80	200	0,3	50	166	148
» » 8	» 28	0,3	25	83	0.3	36	120	0,3	40	133	112
» » 9	» 32	0,2	12	60	0,3	30	100	0,4	35	87	82
» » 10	» 36	0,2	4	20	0,4	18	45	0,3	9	30	31
» » 11	» 40	0,1	0	0	0,4	12	30	0,3	2	6	12
» » 12	» 44	0,2	0	0	0.3	4	13	0,4	1	2	5
» » 13	» 48	0,3	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
» » 14	» 48	0,3	0	0	0,5	0	0	0,25	0	0	0
Versuch IIa. 10. Januar 1906.											
Meerschw Nr. 15	Sofort nach der Einatmung	0,2	3010	15050	0,3	8025	26750	0,2	3190	15950	19250
» » 16		0,15	2115	14100	0,2	7200	36000	0.4	4910	12270	20783
» » 17	Stunden 6	0,1	68	680	0,2	462	2310	0,25	184	736	1242
» » 18	» 6	0,2	102	502	0,4	696	1735	0,2	124	620	952
» » 19	» 12	0,2	75	375	0,3	87	290	0,3	125	416	360
» » 20	» 12	0,1	25	250	0,25	78	312	0,2	94	470	344
» » 21	» 24	0,1	9	90	0,3	23	76	0,2	31	155	107
» » 22	» 24	0,2	22	110	0,2	30	150	0,6	34	85	115
» » 23	» 36	0,2	5	25	0,3	12	40	0,3	20	66	49
» » 24	» 36	0,1	3	30	0,25	5	20	0,2	5	25	25
» » 25	» 48	0,2	0	0	0,3	0	0	0,4	0	0	0
» » 26	» 48	0,15	0	0	0,3	0	0	0,25	0	0	0
» » 27	» 60	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
» » 28	» 60	0,25	0	0	0,3	0	0	0,2	0	0	0

Lymphestrom usf. Ich will hingegen feststellen, dafs ein solches Verteidigungsvermögen von beachtenswerter Energie auch in den Lungen der Meerschweinchen sich erweist, da es ca. 20000 B. prodigiosus pro ccm in weniger als 48 Stunden zu vernichten vermag.

Dieses Studium der Lungen der gesunden Meerschweinchen in ihrer Verteidigung gegen die eingeatmeten Keime um der angegebenen Gründe willen vorausgeschickt, komme ich zum Hauptargument meiner Arbeit, d. h. zur Suche nach den Umwandlungen, welches solches Verteidigungsvermögen erleidet, wenn sich die Lebens- oder Umgebungsverhältnisse der dem Experiment unterstehenden Tiere ändern.

Wirkung der Kälte.

Die Wirkung der Kälte auf den Organismus kann die Ursache derartiger Modifikationen in den inneren Organen sein, dafs der Widerstand erheblich und zumal im Kampfe gegen die Mikroorganismen herabgesetzt wird; da jedoch die Modifikationen, denen die Gewebe durch solche Einwirkung entgegengehen, überaus vielseitig sind, hat sich noch kein gerechtes Kriterium über die Art des Auferstehens einiger Infektionskrankheiten bilden lassen.

Bevor die Bakteriologie ihre diesbez. Studien einleitete, hielt man die Abkühlung für die direkte Ursache zahlreicher Übel; ca. einige 80 nach Schönlein.

In der Folge nahm man, wie dies jedesmal beim Auftreten neuer Theorien geschieht, der Kälte jedwede ätiologische Bedeutung und man glaubte auch die Frage der Kältekrankheiten völlig mit der alleinigen Gegenwart der Mikroorganismen klargelegt zu haben. Aber die Notwendigkeit der individuellen Veranlagung aufser der Gegenwart der pathogenen Mikroorganismen und die Tatsache, dafs sich solche Disposition festlegen und bzw. verschärfen läfst durch die Einwirkung andrer Ursachen, welche auf den Organismus Einflufs nehmen, liefsen eben die Kälte unter die prädisponierenden Ursachen der sogen. Kälte-Krankheiten einreihen.

Wie sich eine Verminderung des Widerstandes infolge von Verkühlung ergebe, ist eines der widerspruchsvollsten Argumente der Pathologie und zahlreich sind deshalb die in dieser Richtung angestellten Versuche und Theorien.

Pasteur war der erste, welcher die Wirkung der Kälte auf den Organismus jenen Teil gab, der ihm leider in der Genesis einiger Krankheiten zukommt, insofern es ihm, wie bekannt, durch Abkühlung der Hühner gelang, dieselben für den Milzbrand, gegen den sie gewöhnlich refraktär sind, zugänglich zu machen. In der Folge bestätigten diese Erfahrungen die Arbeiten von Wagner und Santschenko für die gleiche Infektion, diejenigen von Ernst für die Infektion mit dem fröschetötenden B. auf abgekühlte Frösche, diejenigen von Filehne für den Rotlauf auf abgekühlte Kaninchen, und weitere noch, so dafs damals kein Zweifel bestand über die schwächende Wirkung der Kälte auf den Organismus im Hinblick auf die Infektionskrankheiten.

Wie sein Aktionsmechanismus sei, dies zu studieren, liefsen sich Massalongo, Heidenhain und Lipari angelegen sein. Letzterer erklärt das leichtere Anhaften der Mikroorganismen infolge von Verkühlung mit einer Lähmung der Epithelien und nachfolgender Hyperämie und Tumefaktion der von der Kälte gereizten Schleimhaut, wodurch sich dann das Hinabsteigen der pathogenen Keime in die Lungen-Alveolen ergebe.

Andre Beobachter teilten jedoch damals die Meinung Liparis nicht. Tatsächlich glaubt Lode, welcher mit verschiedenen Infektionskrankheiten an abgekühlten Tieren experimentierte, dafs die gröfsere Anlage der Lungen, infolge von Abkühlung zu erkranken, vielmehr ausschliefslich den Alterationen der natürlichen Wärme-Okonomie zu verdanken sei, welche zu einer mehr oder minder intensiven Verminderung der allgemeinen Wärme führt.

Kifskalt ist jedoch nicht dieser Meinung, da er nicht glaubt, dafs die Abkühlung der Oberfläche des Körpers auch zur Abkühlung der inneren Organe führe und ihnen damit die Widerstandskraft nehme; sondern sich auf die Erfahrungen von

Hofbauer, Heidenhain, Hamburger stützend, meint er, dafs vielmehr die folgende arteriöse Hyperämie den inneren Organen Schaden bringe, sei es zufolge der verminderten Alkalinität des Blutes (welche Lode leugnet), sei es wegen der besseren Lebensbedingungen und der gröfseren Sauerstoffmenge, die die Keime in solchen Verhältnissen antreffen, sei es schliefslich wegen der Widerstandsverminderung der Gewebe, welche der Autor als Begleiterscheinung einer arteriösen Hyperämie ansieht.

Wenn jedoch die von Kifskalt gegen Lode gemachten Einwendungen gerechtfertigt sein können, insofern die Theorie des letzteren wenig aufklärt, da von vielen anderen Beobachtern, unter ihnen Liebermeister, infolge von Abkühlung des Körpers immer eine Hyperämie und meist auch Zunahme der Temperatur angetroffen wurde, so ist doch andrerseits seine Idee nicht überzeugend, dafs eine arteriöse Hyperämie die Widerstandskraft eines gegebenen Organes zu vermindern habe. In der Tat beobachtet Strafser, dafs die artikolären Prozesse infektieusen Ursprungs im guten Sinne von einer arteriösen Hyperämie beeinflufst werden, während hingegen die aus Stase sich ergebende Hyperämie es ist, die auf sie sehr ungünstige Einwirkung nimmt, und deshalb glaubt er mit Ruhemann und Filehne, dafs das Überladen der Lungen mit Blut mehr den Charakter einer Stase denn den einer aktiven Hyperämie habe, welche Stase ihrerseits Modifikationen sowohl in den zellulären Mechanismus der verschiedenen Gewebebestandteile tragen und dergestalt ihre Vitalität und Widerstandskraft alterieren müsse, einen locus minoris resistentiae schaffend, und ev. wirkliche anatomische Alterationen schaffend, wie dies Lipari zeigte und Strafser selbst für die Pneumonite aufrechtzuerhalten vermochte.

Eine solche Theorie erscheint in der Tat die annehmbarste.

Jedoch scheint mir aus meinen Versuchen der Schlufs berechtigt, dafs wenn man auch annimmt, dafs in den Lungen die obenerwähnten Modifikationen stattfinden, welche dergestalt den Boden für die Entwicklung der Keime vorbereiten, eine beachtenswerte Alteration infolge der Abkühlung gerade jenes Verteidigungsvermögen erleidet, mit dem die Lungen gegen die Keime aus-

gestattet sind. Anders gesagt, dafs nicht blofs die Einwanderung der Leukozyten sondern auch ihr phagozytisches Vermögen umgewandelt und die Aktion der bakteriziden Substanzen alteriert werde, so dafs die Keime nicht zerstört werden und in den vorhin erwähnten Lesionen einen günstigeren Boden zu ihrer Entwicklung finden. Das entspricht auch den Erfahrungen Borchards und Holms, welche die Phagozytose in den abgekühlten Tieren studiert haben.

Experimente. Die Meerschweinchen wurden, wie gewöhnlich, in das Verstäuberkästchen eingeführt, um mit der Luft die B. prodigiosus durch 20 Minuten einzuatmen. Danach wurde eines von ihnen sofort getötet, um die Zahl der von den Meerschweinchen eingeatmeten Keime annähernd festzustellen. Gleichzeitig wurden die übrigen in zwei Gruppen geteilt, deren eine im Laboratorium bei 15° C verblieb, während die andere der Wirkung der Kälte ausgesetzt wurde.

Um die Abkühlung der Tiere zu bewerkstelligen, habe ich sie unter möglichst natürliche Verhältnisse bringen wollen. Deshalb habe ich sie nicht mit der Enthaarung noch mit dem Bade abkühlen wollen, wie dies Lode und Lassar taten; noch mit Äther (Massalongo, Lipari, Kasparek), noch mit Eis (Filehne), noch schliefslich mit Antipyretica (Wagner), sondern, da die Jahreszeit günstig war, durch einfache Aussetzung an die Aufsentemperatur, die während meiner Versuche von einem Minimum von — 1° C bis zum Maximum von + 5° C variierte.

Nachdem die Tiere unter den genannten Bedingungen gehalten worden waren, wurden sie von 12 zu 12 Stunden, zugleich mit den in dem Laboratorium gehaltenen Kontrolltieren getötet, und mit der gleichen Technik, die mir für die früheren Untersuchungen gedient hatte, nahm ich die quantitative Bestimmung der in den Lungen enthaltenen B. prodigiosus vor. Ich mufs bemerken, dafs sich die Lungen der der Kälte ausgesetzten Meerschweinchen bei der Autopsie kongestioniert erwiesen, eine Erscheinung, die ich in den Kontrolltieren nicht vorfand.

Um Daten zu erhalten, aus denen sich Schlüsse ziehen liefsen, wiederholte ich den Versuch zu drei verschiedenen Zeiträumen.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle II zusammengefafst.

Tabelle II.

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. grofser Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
	Serie Ia. 17. Januar 1906.										
Meerschw. Nr. 29	Sofort nach der Einatmung	0,2	2500	12500	0,3	6022	20070	0,3	4564	15210	15926
» » 30	Stunden 12	0,1	42	420	0,25	66	264	0,3	90	300	328
» » 31	» 24	0,2	12	60	0,3	6	20	0,3	8	25	35
» » 32	» 36	0,15	1	7	0,4	10	25	0,3	11	35	22
» » 33	» 48	0,2	0	0	0,5	0	0	0,25	0	0	0
» » 34	» 60	0,2	0	0	0,4	0	0	0,4	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serie IIa. 23. Januar 1906.										
Meerschw. Nr. 41	Sofort nach der Einatmung	0,1	502	5020	0,2	4886	24430	0,2	3050	15250	14892
» » 42	Stunden 12	0,3	88	293	0,25	44	176	0,2	60	300	256
» » 43	» 24	0,2	0	0	0,4	8	20	0,3	6	20	13
» » 44	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serie IIIa. 27. Januar 1906.										
Meerschw. Nr. 51	Sofort nach der Einatmung	0,1	922	9220	0,2	6402	32010	0,3	2330	7760	16730
» » 52	Stunden 12	0,1	22	220	0,2	54	270	0,25	50	200	230
» » 53	» 24	0,2	6	30	0,3	15	50	0,4	32	180	53
» » 54	» 48	0,2	0	0	0,2	2	10	0,5	0	0	3
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die in dieser Tabelle vorgeführten Zahlen sind schon an und für sich lehrreich.

Es erweist sich in der Tat mit Deutlichkeit eine Abnahme des Verteidigungsvermögens der Lungen

Wirkung der Kälte.

Der Kälte ausgesetzte Tiere (— 1° bis + 5° C).

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge: Geprüft. Vol in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. grofser Bronchie: Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Basis der linken Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
Serie Ia. 17. Januar 1906.											
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meerschw. Nr. 35	Stunden 12	0,1	61	610	0,2	520	2600	0,25	120	480	1230
» » 36	» 24	0,25	16	120	0,5	35	70	0,3	36	120	110
» » 37	» 36	0,2	10	50	0,4	41	100	0,3	13	40	63
» » 38	» 48	0,2	6	30	0,6	30	50	0,3	35	120	67
» » 39	» 60	0,3	9	30	0,4	28	70	0,3	24	80	60
» » 40	» 72	0,2	2	10	0,5	25	50	0,4	24	60	40
Serie IIa. 23. Januar 1906.											
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meerschw. Nr. 45	Stunden 12	0,2	82	410	0,5	616	1232	0,25	230	920	854
» » 46	» 24	0,2	18	90	0,3	11	36	0,3	140	460	195
» » 47	» 48	0,15	10	70	0,4	22	52	0,2	4	20	47
» » 48	» 60	0,2	12	60	0,4	20	50	0,3	10	32	47
» » 49	» 72	0,2	0	0	0,4	0	0	0,4	2	5	1
» » 50	» 84	0,3	0	0	0,3	0	0	0,4	0	0	0
Serie IIIa. 27. Januar 1906.											
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Meerschw. Nr. 55	Stunden 12	0,2	40	200	0,25	482	1928	0,2	700	3500	1876
» » 56	» 24	0,2	12	60	0,4	46	110	0,3	73	140	103
» » 57	» 48	0,2	10	50	0,3	28	90	0,4	21	50	63
» » 58	» 60	0,1	0	0	0,5	22	44	0,3	19	60	34
» » 59	» 72	0,3	2	7	0,3	3	10	0,4	2	5	7
» » 60	» 84	0,2	0	0	0,4	0	0	0,5	0	0	0

gegen den B. prodigiosus in den der Kälte ausgesetzten Meerschweinchen, sei es wegen der gröfseren Bazillenzahl, die sich beständig in den Lungen der letzteren fand, sei es wegen der gröfseren Zeitdauer,

welche die Lungen zu ihrer völligen Zerstörung brauchten (über 72 Stunden), eine genügend lange Zeit, wenn man erwägt, dafs in weniger als 48 Stunden die gesunden Lungen unter normalen Verhältnissen über 20000 B. prodigiosus zu töten vermögen.

Wirkung der schnellen Temperaturübergänge.

Nachdem festgestellt ward, dafs die fortgesetzte Einwirkung der Kälte auf den Organismus eine Verminderung der schützenden Kraft der Lungen gegen die Keime hervorbringt, wollte ich sehen, ob in mehr oder minder schädlichem Sinne die unvermittelten Übergänge von einer relativ hohen zu einer niedrigeren Temperatur wirken, welche im allgemeinen als von gröfster Schädlichkeit angesehen werden und während deren sich a priori eine gröfsere Unordnung ergeben müfste, sei dies in den vasomotorischen Reflexwirkungen, sei es im biochemischen Insgesamt der Lungenumgebung.

Zu diesem Zwecke setzte ich, indem ich die Kontrolltiere stets bei der Temperatur von 15° C erhielt, die anderen in einen für Tiere eingerichteten Thermostaten bei 30—35° C und zwar 3 Stunden lang, worauf sie schnell in eine Eisgrube von 0° und 1° C durch weitere 3 Stunden gebracht wurden und so fort im Wechsel bis zum Moment der Tötung. Bei dieser Untersuchung, in der ich, um der Tierersparnis halber immer in gleicher Weise operierte, unterliefs ich die Bestimmung der Zahl der Keime, welche von den kaum aus dem Zerstäuberkästchen herausgenommenen Meerschweinchen eingeatmet waren, sei es, weil wir in früheren Untersuchungen gesehen haben, dafs diese Zahl im Durchschnitt zwischen 15000—20000 pro ccm Lungen schwankt, sei es, weil als Zeugenschaft der möglichen Variationen immer die Daten der Kontrolltiere bestehen.

Auch hier wiederholte ich dreimal die Untersuchungen, um schätzbare Resultate zu haben, die in der Tab. III (S. 362 u. 363) gesammelt sind.

Unter Zusammenfassung der in dieser Tabelle vorgetragenen Resultate kann man sagen, dafs in den schnellen Tem-

peratur-Übergängen ausgesetzten Tieren das Schutzvermögen der Lungen gegen die Mikroorganismen von Anfang an beträchtlich vermindert wird, mehr als dies bei jenen Tieren statthat, welche der beständigen Einwirkung der Kälte ausgesetzt sind; aber dieses Vermögen scheint später teilweise seine Kraft zurückzugewinnen, so zwar, dafs es den Lungen gelingt, alle eingeatmeten Keime in kürzerer Zeit zu vernichten, als dies für die Lungen der Meerschweinchen der voraufgegangenen Untersuchung möglich war.

Deshalb könnte man sagen, dafs die Lungen zu Anfang von den schnellen Temperatur-Übergängen stark erschüttert wurden, dann aber sich langsam daran gewöhnen und nach und nach ihren normalen Zustand zurückzugewinnen trachten, ohne ihn aber völlig zu erreichen.

Dies stimmt mit den Ideen überein, welche Pieraccini in seinem Traktat über die Krankheiten der Arbeiter vorträgt. Der Autor bestätigt, indem er von den Arbeitern spricht, welche zufolge ihres Berufes beachtenswerten und schnellen Temperaturschwankungen ausgesetzt sind, dafs wenn auch diese unvermittelten Übergänge Ursache zahlloser Schädigungen des Organismus sein können, immerhin die Angewöhnung eine ausgeprägte Schutzkraft verleiht.

Wirkung der Wärme.

Seltener ist die Ansicht, dafs die Wärme ähnlich der Kälte prädisponierende Ursache der Lungenkrankheiten sein könne; immerhin scheinen einige Erfahrungen von Gibier und Maurel zu zeigen, dafs der Organismus dabei nahezu ähnliche Alterationen erleiden kann, als sie die Kälte im Hinblick auf die Entwicklung der Infektionskrankheiten hervorbringt.

In der Tat gelang es Gibier bei Erwärmung der Frösche, ihnen den Milzbrand zu übertragen, ähnlich dem, was Pasteur

Tabelle III. **Wirkung der**

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Apix rechter Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Apix rechter Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	An der Hälfte des unt. recht. Lappens m. grofser Bronchie: Geprüft. Vol. in ccm	An der Hälfte des unt. recht. Lappens m. grofser Bronchie: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	An der Hälfte des unt. recht. Lappens m. grofser Bronchie: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Basis der linken Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Basis der linken Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Basis der linken Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
Serie Ia. 22. Februar 1906.											
Meerschw. Nr. 61	Stunden 12	0,15	93	620	0,4	501	1252	0,3	137	456	776
» » 62	» 24	0,15	20	132	0,4	127	317	0,2	6	30	159
» » 63	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,2	0	0	0
» » 64	» 60	0,15	0	0	0,5	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie IIa. 5. März 1906.											
Meerschw Nr. 70	Stunden 12	0,1	48	480	0,4	435	1087	0,25	50	200	589
» » 71	» 24	0,15	15	100	0,45	62	136	0,25	48	192	142
» » 72	» 48	0,15	0	0	0,4	2	5	0,3	0	0	1
» » 73	» 60	0,2	0	0	0,4	0	0	0,25	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie IIIa. 12. März 1906.											
Meerschw. Nr. 79	Stunden 12	0,1	20	200	0,4	708	1770	0,25	163	652	874
» » 80	» 24	0,2	22	110	0,4	98	245	0,2	54	270	208
» » 81	» 48	0,15	0	0	0,35	0	0	0,25	0	0	0
» » 82	» 60	0,15	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

erzielte, indem er seine Hühner abkühlte. Maurel sah in der Folge, dafs bei Überhitzung der Tiere die Leukozyten derselben derartige Alterationen zu erleiden hatten, dafs sie ihre zerstörende Kraft gegenüber den Keimen einbüfsten. Wegen dieser Nachforschungen wollte ich mich mit den Experimenten sicherstellen, ob die Lungen im Hinblick auf ihre Verteidigung gegen die Keime Schaden von der länger dauernden Einwirkung nicht übermäfsiger Wärme auf den Organismus erleiden.

Bei diesen meinen Versuchen hielt ich wie bei den früheren stets einen Teil der Tiere zur Kontrolle im Laboratorium,

schnellen Temperaturübergänge.

Den schnellen Temperaturübergängen unterzogene Tiere.
(Von + 30° bis 35° auf 0° bis + 1° C.)

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. grofser Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
Serie Ia. 22. Februar 1906.											
Meerschw. Nr. 65	Stunden 12	0,2	324	1620	0,4	1788	4470	0,3	912	3040	3043
» » 66	» 24	0,2	35	175	0,4	307	767	0,2	118	590	510
» » 67	» 48	0,15	0	0	0,4	185	465	0,3	5	16	160
» » 68	» 60	0,15	0	0	0,4	10	25	0,3	0	0	8
» » 69	» 72	0,2	0	0	0,5	0	0	0,25	0	0	0
Serie II. 5. März 1906.											
Meerschw. Nr. 74	Stunden 12	0,2	340	1700	0,4	790	1985	0,25	300	1200	1628
» » 75	» 24	0,15	18	120	0,4	146	365	0,3	138	460	315
» » 76	» 48	0,2	1	5	0,4	43	107	0,25	10	40	50
» » 77	» 60	0,25	10	40	0,3	11	36	0,25	0	0	25
» » 78	» 72	0,15	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
Serie III. 12. März 1906.											
Meerschw. Nr. 83	Stunden 12	0,2	280	1400	0,3	1004	3346	0,25	512	2048	2264
» » 84	» 24	0,1	18	180	0,4	362	905	0,2	90	450	511
» » 85	» 48	0,15	11	72	0,4	38	95	0,3	41	136	101
» » 86	» 60	0,1	6	60	0,3	8	25	0,25	2	8	31
» » 87	» 72	0,15	0	0	0,4	1	2	0,25	0	0	1

während der andere in einen Thermostaten bei 30—35° C gebracht wurde, nachdem alle, auch die Kontrolltiere, die Einführung des B. prodigiosus in die Lungen mittels des gewöhnlichen Verfahrens erlitten hatten.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen befinden sich in der Tabelle IV. Aus dem Vergleiche der in dieser Tabelle vorgeführten Daten ergibt sich, dafs der andauernde Aufenthalt der Meerschweinchen in einer Temperatur von 30—35° auf das Verteidigungsvermögen der Lungen gegen die Mikroorganismen keinerlei

Tabelle IV.

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
Serie Ia. 31. Januar 1906.											
Meerschw. Nr. 88	Stunden 12	0,15	192	1280	0,4	500	1250	0,3	235	750	109
» » 89	» 24	0,15	10	66	0,5	17	34	0,3	10	33	44
» » 90	» 48	0,2	0	0	0,3	7	23	0,2	0	0	7
» » 91	» 60	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie IIa. 12. Februar 1906.											
Meerschw. Nr. 97	Stunden 12	0,1	100	1000	0,3	257	856	0,3	182	660	838
» » 98	» 24	0,15	2	20	0,4	50	125	0,3	16	53	66
» » 99	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,25	0	0	0
» » 100	» 60	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie III. 22. Februar 1906.											
Meerschw. 106	Stunden 12	0,15	196	1300	0,4	550	1350	0,3	318	1060	1236
» 107	» 24	0,15	20	132	0,4	127	317	0,2	6	30	159
» 108	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,2	0	0	0
» 109	» 60	0,15	0	0	0,5	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Einfluſs hat, denn die Zahlen, welche die Menge der in den Lungen der im Thermostaten gehaltenen Tiere vorgefundenen Keime darstellen, erweisen sich beim Vergleich mit denen der Kontrolltiere nur wenig und nicht beständig höher und erlauben deshalb nicht den Schluſs, daſs die Lungen in jener Funktion, deren Studium wir uns angelegen sein lassen, einen Schaden erlitten haben.

Wirkung des Bades.

Einige Experimentatoren pflegten, wie ich auch anläſslich der Wirkung der Kälte auf den Organismus erwähnte, bei ihren

Wirkung der Wärme.

In + 30° bis + 35° C gehaltene Tiere.

Versuchstiere		Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit		In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
				Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
Serie I. 31. Januar 1905.													
Meerschw. Nr.	92	Stunden	12	0,2	173	865	0,4	585	1462	0,4	291	727	1018
»	» 93	»	24	0,2	10	50	0,4	44	110	0,4	23	57	72
»	» 94	»	48	0,25	0	0	0,4	0	0	0,4	7	17	5
»	» 95	»	60	0,15	0	0	0,5	2	4	0,3	0	0	1
»	» 96	»	72	0,2	0	0	0,3	0	0	0,4	0	0	0
Serie II. 12. Februar 1906.													
Meerschw.	101	Stunden	12	0,2	192	960	0,4	458	1145	0,2	117	585	896
»	102	»	24	0,2	16	80	0,4	35	87	0,3	16	53	73
»	103	»	48	0,25	0	0	0,4	2	5	0,3	0	0	1
»	104	»	60	0,2	0	0	0,3	0	0	0,4	0	0	0
»	105	»	72	0,2	0	0	0,5	0	0	0,3	0	0	0
Serie III. 22. Februar 1906.													
Meerschw.	110	Stunden	12	0,2	156	780	0,4	729	1822	0,25	295	1180	12[illegible]0
»	111	»	24	0,2	14	70	0,4	112	280	0,2	11	50	133
»	112	»	48	0,15	0	0	0,4	26	65	0,25	29	76	43
»	113	»	60	0,25	0	0	0,35	0	0	0,2	0	0	0
»	114	»	72	0,15	0	0	0,35	0	0	0,3	0	0	0

Versuchen die Tiere in der Weise abzukühlen, dafs sie sie in Bädern von ziemlich niederen Temperaturen hielten; und sie zogen ihre Schlüsse aus der Wirkung dieser gegebenen Temperatur auf den Organismus der Tiere. Sie dachten dabei nicht daran, dafs die thermische Kapazität des Wassers wesentlich höher ist als diejenige der Luft, so dafs das Bad von einer gegebenen Temperatur auf den Organismus wesentlich andere Modifikationen ausübt als diejenigen sind, welche die Luft bei einer Temperatur ausüben würde, die um viele Grade niedriger ist.

Und aus diesem Grunde wollte ich auch in meinen vorausgegangenen Untersuchungen über die Wirkung der Kälte keinen

Gebrauch vom Abkühlungsbade der Tiere machen, da ich sicher war, derart keine Resultate bezüglich der Temperatur zu erhalten, mit der ich experimentieren wollte. Zur Unterstützung meiner Anschauungsweise haben wir die Beobachtungen Hayems, welcher gefunden hat, dafs die Temperaturschwankungen in der Luft wesentlich besser und länger ertragen werden als diejenigen im Wasser; und ferner jene Vinays, der am Ende seiner zahlreichen Versuche über die Bäder zu dem Schlusse kommt, dafs die vom Wasser bei einer Temperatur von + 6° bis + 12° C gegebene thermische Umgebung Schmerz und substantielle physiologische Modifikationen hervorbringt, während die bei der gleichen Temperatur von der Luft gegebene thermische Umgebung sehr leicht als Kälte empfunden wird und die funktionellen und physiologischen Modifikationen geringe Bedeutung haben. Bei den höheren Temperaturen sah er dann, dafs die vom Wasser bei + 20° C gegebene thermische Umgebung in überaus lebhafter Weise als Kälte empfunden wird und Modifikationen des Pulses und der Atmung hervorbringt, und jene bei + 25° bis + 32° als Frische und gleichfalls in milderem Grade physiologische Modifikationen ergebend, während die Lufttemperatur bei + 20° C als milde Wärme empfunden wird und jene von + 25° bis + 32° C als schlecht ertragene Hitze, physiologische Modifikationen im entgegengesetzten Sinne hervorbringend als diejenigen, die man beim Wasser von gleicher Temperatur erleidet. Auf Grund dieser Erwägungen habe ich sehen wollen, welchen Einflufs das Bad, sei es auch bei ziemlich hoher Temperatur, auf das Verteidigungsvermögen der Lungen der Meerschweinchen gegen die Mikroorganismen habe, indem dasselbe auf den Organismus besondere und ihm eigentümliche Wirkungen ausübt.

Nachdem ich wie gewöhnlich Meerschweinchen vom gleichen Alter und nahezu vom gleichen Gewicht gewählt hatte, nahm ich die gewöhnliche Einpflanzung des B. prodigiosus in die Lungen vor und nachdem ich sie dann in zwei Gruppen geteilt hatte, deren eine mir für Kontrolle diente, setzte ich die andere ins Bad von + 30° bis + 35° C 20 Minuten hindurch alle 12 Stunden bis zum Augenblick, wo das Tier getötet wurde.

Ich mufs übrigens sogleich bemerken, dafs die Meerschweinchen ein derartiges Bad schlecht ertrugen, da sie sofort nach demselben die Nahrung verweigerten und halb ausgestreckt, unbeweglich im Käfig verblieben.

Ich fasse in der Tabelle V (S. 368 u. 369) die Resultate zusammen.

Aus dieser Tabelle erweist sich deutlich, wie das Bad von der Temperatur von 30—35° C einen schädlichen Einflufs auf das bakterizide Vermögen der Lungen ausübt, da es die Zerstörung der eigens den Meerschweinchen durch Inhalation beigebrachten Mikroorganismen verzögern macht.

Dies zeigt, wie das Bad auf den Organismus einen wesentlich umfänglicheren und zuweilen wesentlich schädlicheren Einflufs ausübt als die thermische Umgebung der Luft; denn während in dem vorausgegangenen Versuche die in der Luft von 30—35° C gehaltenen Tiere fast gar keine Modifikation in Hinsicht auf das uns hier beschäftigende Argument erwiesen, sind die Modifikationen hingegen in jenen, die das Bad bei der gleichen Temperatur durch nur 20 Minuten alle 12 Stunden zu erleiden hatten, derart hervorspringend und beständig, dafs man über dieselben nicht den mindesten Zweifel mehr haben kann. Und das findet seine kombinierte Erklärung in der Tatsache, dafs schon bei 30—35° C das Wasser dem Organismus wesentlich mehr Wärme entzieht als die Luft dies bei gleicher Temperatur tut, und in der anderen, dafs das bakterizide Vermögen der Lungen, wie sich vorhin ergab, nachläfst, sobald sich eine Abkühlung des Körpers bemerkbar macht. Meine Resultate geben also dergestalt eine Stütze für die Meinung etlicher Hydrologen und vieler Kliniker, welche das Bad in den Infektionskrankheiten der Lungen nicht anraten.

Wirkung der Ermüdung.

Die Ermüdung ist, wenn man sie nicht direkte Ursache von Krankheiten heifsen kann, oft die prädisponierende Ursache derselben, indem sie den Organismus schwächt.

Es ist in der Tat durch die Arbeiten von Mosso, Ranke, Liebig, Gaucher, Rummo, Bordoni u. a. allgemein be-

Tabelle V.

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m grofser Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl des B. prodigiosus pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berech. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berech. Kol.	
Serie I. 22. März 1906.											
Meerschw. Nr. 115	Stunden 12	0,1	108	1080	0,5	418	836	0,3	272	906	940
» » 116	» 24	0,15	10	66	0,4	380	950	0,3	90	300	438
» » 117	» 48	0,15	0	0	0,4	0	0	0,25	0	0	0
» » 118	» 72	0,15	0	0	0,4	0	0	0,25	0	0	0
Serie II. 3. Mai 1906.											
Meerschw. Nr. 123	Stunden 12	0,1	182	1820	0,4	474	1185	0,3	199	633	1212
» » 124	» 24	0,2	102	510	0,4	5	12	0,35	10	32	184
» » 125	» 48	0,1	0	0	0,3	0	0	0,2	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie III. 9. Mai 1906.											
Meerschw. Nr. 130	Stunden 12	0,2	134	670	0,4	319	797	0,3	294	980	815
» » 131	» 24	0,1	35	350	0,3	217	720	0,2	16	80	383
» » 132	» 48	0,15	0	0	0,5	2	4	0,3	0	0	1
» » 133	» 72	0,15	0	0	0,4	0	0	0,4	0	0	0

kannt, dafs die Ermüdung, zumal jene der Muskeln, Anlafs zu verschiedenen toxischen Produkten bietet, welche Gautier Leukomanie heifst, und die nicht nur den funktionierenden Teil beschädigen, sondern, indem sie sich in den Blutkreislauf ergiefsen, den ganzen Organismus zu alterieren beginnen, ihn auf die verschiedenste Weise schädigend.

Der Teil, der die Ermüdung im Hinblick auf die Entwicklung der Infektionen betrifft, ward von Charrin und Roger studiert.

Diese Autoren experimentierten an weifsen Mäusen; sie ermüdeten diese Tiere, indem sie sie geraume Zeit in der gewöhn-

Wirkung des Bades.

Im Bade gehaltene Tiere (zu + 30° bis + 35° C).

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. vom B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. vom B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. vom B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
Serie I. 22. März 1906.											
Meerschw. Nr. 119	Stunden 12	0,1	182	1820	0,4	494	1235	0,3	313	1010	1355
» » 120	» 24	0,15	5	32	0,4	380	950	0,3	220	733	571
» » 121	» 48	0,2	53	265	0,4	41	102	0,3	65	216	194
» » 122	» 72	0,15	0	0	0,4	25	62	0,25	0	0	20
Serie II. 3. Mai 1906.											
Meerschw. Nr. 126	Stunden 12	0,1	206	2060	0,45	798	1772	fehlt wegen des gebrochenen Zylinders			1916
» » 127	» 24	0,1	48	480	0,5	216	432	0,3	162	540	484
» » 128	» 48	0,15	0	0	0,5	157	314	0,3	82	273	195
» » 129	» 72	0,15	0	0	0,5	0	0	0,3	0	0	0
Serie III. 9. Mai 1906.											
Meerschw. Nr. 134	Stunden 12	0,2	124	620	0,5	590	1186	0,3	401	1336	1045
» » 135	» 24	0,15	40	266	0,4	412	1030	0,2	72	360	552
» » 136	» 48	0,1	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
» » 137	» 72	0,1	0	60	0,5	10	20	0,2	34	170	85

lichen Drehtrommel gehen liefsen, und zwar nach vorausgegangener Einimpfung etlicher Tropfen von abgeschwächter Milzbrandkultur und gleichzeitig Kontrolltiere haltend, sahen sie, dafs während die ermüdeten Tiere in kurzer Zeit starben, die Kontrolltiere der Milzbrandinfektion widerstanden. Die gleichen Resultate erhielten sie beim symptomatischen Milzbrand, während mit den Kulturen des hämatischen virulenten Milzbrandes, wenn sich auch bei den Kontrolltieren der Tod ergab, dieser doch immerhin wesentlich später eintrat als bei den der Ermüdung ausgesetzten Tieren. Deshalb kamen sie zum Schlusse, dafs die den, sei es mit dem hämatischen, sei es mit dem symptomatischen Milzbrand eingeimpften Tieren auferlegte allgemeine Ermüdung

in bemerkenswerter Weise die Entwicklung und allgemeine Ausbreitung der Infektion begünstigt.

Zu ähnlichen Schlüssen bei anderen Infektionen kamen auch Arloing und Thomas, welche ähnlich wie die vorgenannten Autoren bestätigten, dafs die Ermüdung die Verteidigungskraft des Organismus im allgemeinen herabsetzt und die Entwicklung der Infektionskrankheiten begünstigt.

Im Gegenteil hat jedoch Ceni, der dem bakteriziden Vermögen des Blutes von ermüdeten Schafen und Hunden nachforschte, erwiesen, dafs das bakterizide Vermögen des Blutes wenig unter dem Einflusse der Ermüdung variiert, und dafs im allgemeinen dieses Vermögen nur beim Schafe und bei der kurz dauernden Ermüdung abnimmt, während es in demselben bei länger dauernder Ermüdung zunimmt.

Auf Grund solcher Versuche wollte ich sehen, welchen Einflufs die Muskelermüdung auf die Lungen ausübe, und zwar immer im Hinblick auf ihre Schutzkraft gegen die Mikroorganismen.

Zu diesem Forschungszwecke wurden die Meerschweinchen, nachdem ich sie, more solito, den B. prodigiosus hatte einatmen lassen und nachdem ich die zur Kontrolle bestimmten abgesondert, in eine Drehtrommel gesetzt, die ich eigens für sie hatte herstellen lassen.

Diese Trommel war vom Durchmesser eines Meters und ihre Breite derart, dafs die Meerschweinchen verhindert wurden, sich quer zu legen und so also sich zu wälzen statt zu laufen, aufserdem liefs ich, um zu verhindern, dafs die in Bewegung befindlichen Tiere ausgleiten könnten, längs des Trottoirs der Trommel so viel Querbälkchen legen, dafs das Tier gezwungen wurde, die Beine zu gebrauchen, um vorwärts zu kommen.

Anfangs wollten sich die Meerschweinchen nicht zu diesem Spiel herbeilassen, aber mit etwas Geduld und anfangs nur langsam drehend, gelingt es, sie an diesen unfreiwilligen Wettlauf zu gewöhnen. Die Tiere wurden also ins Rad gestellt, in dem ich sie in etwa einer halben Stunde mit kurzen Ruhepausen einen halben Kilometer zurücklegen liefs, wonach das Tier in

anbetracht der Länge des zurückgelegten Weges und der Schnelligkeit einerseits, der Kleinheit ihrer Körper anderseits wirklich müde erschien.

Das Laufen wurde zweimal täglich für jedes Tier wiederholt bis zum für die Tötung bestimmten Moment. Im übrigen ging ich wie in meinen früheren Versuchen vor.

Wie sich aus der Tabelle VI ergibt, setzt die Muskelermüdung das Verteidigungsvermögen bedeutend herab, welches die Lungen den in sie eingedrungenen Mikroorganismen entgegenzusetzen vermögen. In der Tat wurde 72 Stunden nach der Inhalation des B. prodigiosus dieser B. beständig in aufserordentlich ergiebigen Mengen in den Lungen der Versuchstiere vorgefunden. Und beim Vergleich dieser Zahlen mit den beim Examen der Lungen der Kontrolltiere erhaltenen erweist sich, dafs die Zahl der B. prodigiosus, die sich nach 72 Stunden in den Lungen der ermüdeten Meerschweinchen feststellen läfst, sich derjenigen nähert, die sich nach 24 Stunden in den Kontrolltieren vorfindet; es ergibt sich also eine Verzögerung in der Vernichtung von gut 48 Stunden. Deshalb bin ich mit Marfan der Meinung, dafs die Ermüdung durch die chemischen Veränderungen, die sie in den Organen hervorruft, das Verteidigungsvermögen des Organismus und zumal der Lungen gegen die Mikroben herabsetze; Herabsetzung, welche Marfan der geringeren Tätigkeit der Phagozyten, der verminderten chemiotoxischen Aktion der Zellen und bakteriziden und antitoxischen Funktion der Säfte zuschreibt.

Wirkung der Traumen.

Es ist allgemein bekannt, dafs auch die Traumen mehr oder minder direkt für Infektionskrankheiten prädisponieren können.

Was nun die Lungeninfektionen zumal angeht, so stellen die zahlreichen klinischen Beobachtungen, die über diesen Gegenstand von Litten, Murri, Paterson, Lucatello, Mircoli, Galluzzi und noch andere gemacht wurden, fest, dafs man infolge eines Trauma auf die Thoraxwand infektive Lungen-

Tabelle VI.

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile									Durchschnittszahl des B. prodigiosus pro ccm Lunge
		Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie			Basis der linken Lunge			
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
				Serie I. 2. April 1906.							
Meerschw. Nr. 138	Stunden 12	0,2	1	5	0,4	239	597	0,3	153	510	370
» » 139	» 24	0,15	10	66	0,4	15	37	0,3	0	0	34
» » 140	» 48	0,15	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
» » 141	» 72	0,2	0	0	0,35	0	0	0,25	0	0	0
				Serie II. 11. April 1906.							
Meerschw. Nr. 146	Stunden 12	0,15	35	232	0,4	450	1125	0,3	338	1126	827
» » 147	» 24	0,15	4	26	0,45	48	106	0,3	25	83	71
» » 148	» 48	0,1	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				Serie III. 20. April 1906.							
Meerschw. Nr. 153	Stunden 12	0,1	12	120	0,5	318	636	0,3	212	706	487
» » 154	» 24	0,2	22	110	0,4	39	97	0,2	12	60	89
» » 155	» 48	0,15	0	0	0,45	0	0	0,3	0	0	0
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

prozesse haben könne, die sich mit aller Wahrscheinlichkeit nicht entwickelt haben würden, wenn das Trauma nicht eingetreten wäre. Zur Unterstützung solcher Beobachtungen bestehen die Experimentalversuche von Hermann, von Schuller, von Mariani, von Gamalcia.

Dieser letztere unterzog, nachdem er in die Trachea verschiedener Schafe den Pneumokokkus eingeführt, einige derselben Traumen der Thoroxwände und in vielen derselben erwies sich die Entwicklung der Pneumonie, was hingegen nicht der Fall war in den zur Kontrolle gehaltenen Tieren.

Wirkung der Ermüdung.

Ermüdete Tiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl des gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. vom B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. vom B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. vom B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
Serie I. 2. April 1906.											
Meerschw. Nr. 142	Stunden 12	0,15	100	666	0,3	536	1786	0,3	113	376	949
» » 143	» 24	0,15	11	72	0,4	75	187	0,25	129	516	258
» » 144	» 48	0,15	35	232	0,4	2	5	0,3	0	0	79
» » 145	» 72	0,15	0	0	0,5	37	74	0,2	0	0	23
Serie II. 11. April 1906.											
Meerschw. Nr. 149	Stunden 12	0,15	151	1006	0,4	621	1552	0,3	131	436	991
» » 150	» 24	0,15	20	132	0,4	50	124	0,3	23	76	110
» » 151	» 48	0,15	150	1000	0,4	20	50	0,35	35	100	383
» » 152	» 72	0,15	6	40	0,4	88	220	0,3	0	0	86
Serie III. 20. April 1906.											
Meerschw. Nr. 156	Stunden 12	0,1	86	860	0,4	602	1504	0,3	92	306	890
» » 157	» 24	0,15	44	292	0,5	176	352	0,3	68	226	290
» » 158	» 48	0,2	38	190	0,4	48	120	0,2	42	210	173
» » 159	» 72	0,15	12	80	0,4	16	40	0,3	3	10	43
» » 160	» 96	0,15	0	0	0,5	0	0	0,25	0	0	0

Er nimmt nun mit den übrigen, vorhin zitierten Autoren an, dafs das leichte Anhaften und die leichte Entwicklung der Mikroorganismen in einer traumatischen Region den degenerativen Alterationen der Gewebe, den Kreislaufstörungen und den Blutaustritten zu verdanken sei, welche den Bakterien ein gutes Nährmittel darbieten, was dazu beiträgt, eine Alteration der Widerstandskraft der Lungen gegen die Mikroorganismen hervorzubringen.

Bislang haben wir gesehen, dafs, auch ohne das Bestehen solcher Störungen, das Verteidigungsvermögen der Lungen gegen

die Mikroorganismen im allgemeinen von anderen Ursachen modifiziert werde; wird nun dieses Vermögen auch vom Trauma nicht nur am traumatischen Punkte, wo solche Störungen sich ergeben, modifiziert oder auch im Reste der Lungen, der vom Trauma nicht direkt beschädigt wird?

Meine Versuche wurden in folgender Weise vorgenommen:

Ich führte das Trauma in den zu den Versuchen bestimmten Meerschweinchen herbei, indem ich mit einem Holzhämmerchen einen Teil des Thorax erschütterte, den ich sofort dadurch kennbar machte, dafs ich die Haut mit einer Anilinfarbe färbte. Bei der ersten Versuchsreihe brachte ich bei den Tieren zuerst das Trauma hervor und dann liefs ich sie nach und nach die Inhalation des B. prodigiosus vornehmen. Bei der zweiten Reihe nahm ich zuerst die Keimeinpflanzung in den Lungen vor und gleich darauf brachte ich das Trauma zustande.

Die Tiere wurden wie gewöhnlich innerhalb festgesetzter Zeiträume getötet und von jedem derselben nahm ich diesmal nicht mehr drei, sondern vier Lungenstückchen in Prüfung. Das erste Stückchen, das ich entfernte, war das der traumatisierten Region entsprechende, das sich meist leicht feststellen liefs wegen eines leichten an der Oberfläche der betreffenden Lunge bemerkbaren Blutaustrittes; dann entfernte ich ein Stückchen in der gleichen Gegend der anderen nicht traumatisierten Lunge, und darauf noch zwei andere Stückchen, eines von der Lunge, die das Trauma erlitt, aber entfernt vom beschädigten Punkte, das andere von der entsprechenden Region in der homologen Lunge. Ebensoviele Stücke wurden aus den entsprechenden Regionen bei den Kontrolltieren entfernt und bei allen schritt ich zur quantitativen Feststellung des B. prodigiosus. (Tab. VII und VII bis.)

Aus den obenerwähnten Untersuchungen ergibt sich, dafs das Trauma, sei es nun der Einpflanzung des B. prodigiosus vorausgehend oder nachfolgend, bewirkt, dafs der letztere sich immer an der beschädigten Stelle in gröfserer Menge vorfindet, und zwar durch längere Zeit als in den anderen Lungenteilen.

Aus dem aufmerksameren Studium der Tabellen ergibt sich noch eine andere Tatsache, die nämlich, dafs, wenn auch das

Trauma seine Wirkung nur auf einen kleinen Teil des Lungenlappens entfaltet hat, dennoch der ganze Lappen eine Alteration im Hinblick auf die Zerstörungskraft gegen die in ihn eingedrungenen Mikroorganismen erfährt; betreffs der Meerschweinchen Nr. 165 der I. Reihe und Nr. 171—172 der II. Reihe, welchen aufser den Lungenstücken der eigentlich traumatischen auch Stücke desselben Lappens entnommen wurden, hat sich gezeigt, dafs in den letzteren auch 48 und 72 Stunden nach der Inhalation noch Bazillen befanden, während sich in den entsprechenden Stücken der Lunge der andern Seite und in denen der Kontrolltiere keine Keime mehr nachweisen liefsen. Eine solche Alteration findet jedoch in den anderen Lappen nicht statt und noch weniger in der Lunge der entgegengesetzten Seite; denn beachtenswerte Differenzen ergaben sich bei der Prüfung der verschiedenen Lungenstücke der anderen Meerschweinchen nicht.

Deshalb darf man schliefsen, dafs die Traumen der Brustwand nicht blofs die Schutzkraft gegen die Mikroorganismen in der vom Trauma beschädigten Lungenpartie herabsetzen, sondern diese Funktion auch in dem gesamten betroffenen Lappen herabsetzen, was für eine Stelle auch immer direkt vom Trauma berührt sei.

Wirkung des Staubes.

Ich will mich nicht über die mechanische und chemische Wirkung auslassen, welche die verschiedenen von der Lunge eingeatmeten Staubarten auf dieselbe ausüben, jene beachtenswerte Reihe von Krankheiten hervorbringend, welche vom einfachen Bronchialkatarrh bis zur schweren Pulmonie und zum Lungenabszefs ausgreift.

Der Natur meiner Studien entsprechend will ich nur auf die bekannte Tatsache hinweisen, dafs infolge von Staubeinatmung das Anhaften von Mikroorganismen in der Lunge und die nachfolgende Entwicklung von Infektionskrankheiten viel leichter wird und dies um so mehr, um so schädlicher die eingeatmeten Staubarten sind.

Tabelle VII.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodig. und der Suche nach ihm verstrichene Zeit	Traumatisierte Lunge					
		Stück A entsprechend dem von Trauma beschädigten Teil	Geprüftes Volumen	Zahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der Kolonien a. 1 ccm Lunge berechn.	Stück B Entfernung von traumatisiert. Punkte entnommenen	Geprüftes Volumen
							Traumatisierte
							Serie I.
Meerschw. 161	Std. 6	bei 1/2 rechter unterer Lappen	0,4	1129	2822	Apix recht. Lunge	0,1
» 162	» 24	unt. Teil d. recht. unteren Lappens	0,45	160	400	» » »	0,2
» 163	» 48	ob. recht. Lappen unterer Teil	0,3	3	10	Basis des unteren rechten Lappens	0,2
» 164	» 54	do.	0,25	29	116	do.	0,2
» 165	» 72	ob. linker Lappen unterer Teil	0,4	8	20	linker Apix	0,1
							Serie II.
Meerschw. 169	Std. 6	bei 1/2 linker unterer Lappen	0,4	788	1970	linker Apix	0,25
» 170	» 24	bei 1/2 rechter unterer Lappen	0,3	182	606	rechter Apix	0,2
» 171	» 48	bei 1/2 recht. unt. Lappen unt. Teil	0,5	256	512	recht. unt. Lappen oberer Teil	0,2
» 172	» 54	ob. linker Lappen unterer Teil	0,2	20	100	linker Apix	0,2
							Kontroll-
		Der traumatisierten entsprechende Lunge					
							Serie I.
Meerschw. 166	Std. 6	bei 1/2 rechter unterer Lappen	0,4	635	1587	Apix recht. Lunge	0,2
» 167	» 24	unterer Teil rechter unterer Lappen	0,45	62	136	» » »	0,2
» 168	» 48	ob. recht. Lappen unterer Teil	0,4	0	0	Basis des rechten unteren Lappens	0,15
							Serie II.
Meerschw. 173	Std. 6	bei 1/2 linker unterer Lappen	0,4	506	1260	linker Apix	0,1
» 174	» 24	bei 1/2 rechter unterer Lappen	0,25	14	56	rechter Apix	0,2
» 175	» 48	bei 1/2 recht. unt. Lappen unt. Teil	0,5	1	10	rechter unterer Lappen	0,3

Wirkung der Traumen.

		Nicht traumatisierte Lunge der anderen Seite							
Zahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der Kolonien a. 1 ccm Lunge berechn.	Stück C entsprechend demjenigen der anderen Lunge, das v. Trauma betroffen ward	Geprüftes Volumen	Zahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der Kolonien a. 1 ccm Lunge berechn.	Stück D demjenigen d. anderen Lunge entsprechend, das auf Entfernung vom traumatisierten Punkte entnomm. ward	Geprüftes Volumen	Zahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der Kolonien a. 1 ccm Lunge berechn.
Tiere.									
5. März 1906.									
98	980	bei $^1/_2$ linker unterer Lappen	0,4	715	1787	Apix linker Lunge	0,2	204	1020
24	120	unt. Teil d. linken unteren Lappens	0,4	105	262	» » »	0,1	8	80
0	0	ob. link. Lappen unterer Teil	0,3	0	0	Basis des unteren linken Lappens	0,1	0	0
0	0	do.	0,25	0	0	do.	0,2	0	0
2	20	ob. recht. Lappen unterer Teil	0,4	0	0	rechter Apix	0,1	0	0
3. Mai 1906.									
154	616	bei $^1/_2$ rechter unterer Lappen	0,4	532	1330	rechter Apix	0,2	104	520
6	30	bei $^1/_2$ linker unterer Lappen	0,3	8	26	linker Apix	0,1	7	70
8	40	link. unt. Lappen unterer Teil	0,35	6	16	recht. unt. Lappen oberer Teil	0,25	0	0
2	10	recht. ob. Lappen unterer Teil	0,3	0	0	rechter Apix	0,15	0	0

Tiere.

		Die der nicht traumatisierten entsprechende Lunge							
5. März 1906.									
208	1040	bei $^1/_2$ unterer linker Lappen	0,3	742	2470	Apix linker Lunge	0,1	194	1940
21	105	unterer Teil linker Lappen	0,25	40	160	» » »	0,1	0	0
0	0	ob. link. Lappen unterer Teil	0,3	0	0	Basis des linken unteren Lappens	0,2	0	0
3. Mai 1906.									
89	890	bei $^1/_2$ rechter unterer Lappen	0,25	394	1576	rechter Apix	0,1	106	1060
12	60	bei $^1/_2$ linker unterer Lappen	0,5	20	40	linker Apix	0,2	2	10
0	0	linker unterer Lappen	0,4	0	0	unt. recht. Lappen oberer Teil	0,15	0	0

So fand Arnold, der sich viel mit diesem Gegenstande befafste, dafs, wenn er verschiedene Versuchstiere verschiedene Staubarten einatmen liefs, die geringere Sterblichkeit derselben durch Pneumonite von jenen Tieren geboten ward, welche Rufs, und die gröfste von denen geboten ward, welche Schmirgel- oder Bimssteinstaub eingeatmet hatten.

Analoge Tatsachen wurden von Villaret, von Albrecht, von Claissé und Jousué gefunden, da alle in der Bestätigung übereingingen, dafs die in grofser Menge eingeatmeten Staubarten, wenn auch in verschiedener Weise in den Lungen wirkend, immerhin in ihnen einen Reizzustand hervorbringen, welcher das Organ nicht nur für die verschiedensten Infektionskrankheiten vorbereitet, sondern auch den Ablauf schwerer gestaltet um der Läsionen willen, welche die Staubarten im Lungengewebe hervorbringen.

Ich wollte bei dieser Gelegenheit auch sehen, innerhalb welcher Grenzen sich die Umwandlung des Schutzvermögens der Lungen gegen die Mikroorganismen infolge der Einatmung verschiedener Staubarten, unabhängig von den anatomischen Läsionen der Lungen selbst vollzieht.

Für die Versuche wählte ich zwei Staubarten, eine unter jenen, welche die Atmungsorgane im geringsten Grade verletzen (Lykopodiumstaub), die andere aber unter denen, welche in höherem Grade verletzen (Schmirgelstaub).

Ich liefs diese Staubarten zwei verschiedene Gruppen von Meerschweinchen in Sonderkistchen mittels Verstäuber zwei Stunden lang und zweimal täglich einen ganzen Monat hindurch einatmen; am Ende desselben liefs ich sie dann den B. prodigiosus einatmen und ging, andere für die Kontrolle behaltend, wie bei den früheren Versuchen vor.

In den Schlufstabellen sind die Resultate der Kontrollen wiederholt worden, da ich mich derselben für alle beiden Gruppen der Einatmung der verschiedenen Staubarten unterworfenen Tiere bediente, weil beide zugleich der Einpflanzung des B. prodigiosus und zwar zur selben Zeit unterzogen worden waren. Tabelle VIII (S. 380/81).

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, dafs, während der Lykopodiumstaub, in beträchtlicher Menge von den Meerschweinchen eingeatmet, in deren Lungen eine zwar schädliche, aber nur schwach bemerkbare Aktion auf die gegen die Mikroorganismen gerichtete Zerstörungskraft ausübt, der Schmirgelstaub hingegen beträchtliche Schäden mit sich bringt. Und wenn auch zu diesem schädlichen Einflufs natürlicherweise viel die anatomischen Läsionen beitragen, welche von der Härte und Billigkeit des Schmirgels veranlafst werden, so ermächtigt doch das mit dem Lykopodiumstaube erhaltene Resultat zu dem Schlusse, dafs sich, unabhängig von den Läsionen, eine Verminderung des bakteriziden Vermögens der Lungen vollzogen haben mufs.

Wirkung des Alkohols.

Der neuere Kampf, den man nicht nur gegen den Mifsbrauch, sondern auch gegen den Gebrauch des Alkohols von seiten vieler Antialkoholisten-Vereinigungen führt und bei dem man sogar das völlige Verschwinden des Alkohols aus dem Bereiche der Getränke anstrebt, veranlafste mich, Umschau zu halten, ob eine solche Substanz wirklich, wie man allgemein glaubt, eine schädliche Wirkung auf die Verteidigung der Lungen ausübe.

Tatsächlich neigen klinische Beobachtungen zum Beweise, dafs dem Alkoholismus eine überwiegende Wirkung in der Genese der infektiven Lungenkrankheiten zukomme und alle Autoren, die den Gegenstand zu behandeln unternahmen, von Magnus-Hufs angefangen bis zu Founier, Lanceraux, Massalongo, Wesener — um nur einige zu nennen — sind sich in der Bestätigung einig, dafs der Alkoholismus die Entwicklung der Lungenkrankheiten begünstige.

In der Neuzeit wurden besonders zahlreiche Versuche gemacht, um die Aktion des Alkohols im Hinblick auf die Entwicklung der Infektionskrankheiten zu studieren, und verschieden sind die diesbezüglich laut gewordenen Meinungen; so fanden einige, dafs die Einführung des Alkohols in den Körper die

Tabelle VIII.

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Apix rechter Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Apix rechter Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	An der Hälfte des recht unt. Lappens m. großer Bronchie: Geprüft. Vol. in ccm	An der Hälfte: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	An der Hälfte: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Basis der linken Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Basis der linken Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Basis der linken Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
Serie I. 13. März 1906.											
Meerschw. Nr. 176	Stunden 12	0,2	56	280	0,4	178	320	0,25	80	320	300
» » 177	» 24	0,2	0	0	0,4	70	175	0,3	3	10	61
» » 178	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie II. 21. März 1906.											
Meerschw. Nr. 183	Stunden 12	0,15	100	666	0,4	380	950	0,3	90	300	638
» » 184	» 24	0,1	28	280	0,5	46	92	0,25	10	40	104
» » 185	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolltiere.											
Serie I. 13. März 1906.											
Meerschw. Nr. 176	Stunden 12	0,2	56	280	0,4	128	320	0,25	80	320	306
» » 177	» 24	0,2	0	0	0,4	70	175	0,3	3	10	61
» » 178	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie II. 21. März 1906.											
Meerschw. Nr. 183	Stunden 12	0,15	100	666	0,4	380	950	0,3	90	300	638
» » 184	» 24	0,1	28	280	0,5	46	92	0,25	10	40	104
» » 185	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Entwicklung der Infektion begünstige, während andere in ihm einen Feind der letzteren sehen.

Abbott führte in den Magen von Kaninchen von 5 bis 15 ccm Alkohol durch 114 Tage, worauf sich, wie er schreibt,

Wirkung der Staubarten.

Tiere, die einen Monat hindurch mit Staub erfüllte Luft einatmeten.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	Apix rechter Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Apix rechter Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Apix rechter Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie: Geprüft. Vol. in ccm	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Basis der linken Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Basis der linken Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Basis der linken Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
Tiere, welche einen Monat hindurch mit Lykopodiumstaub erfüllte Luft einatmeten.											
Serie I. 13. März 1906.											
Meerschw. Nr. 179	Stunden 12	0,2	75	375	0,5	399	798	0,2	73	365	546
» » 180	» 24	0,2	12	60	0,4	98	245	0,3	31	103	136
» » 181	» 48	0,2	0	0	0,4	6	15	0,25	0	0	5
» » 182	» 72	0,15	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
Serie II. 21. März 1906.											
Meerschw. Nr. 186	Stunden 12	0,2	106	530	0,5	404	808	0,25	126	504	614
» » 187	» 24	0,1	7	70	0,5	70	140	0,25	42	168	126
» » 188	» 48	0,2	4	20	0,5	6	12	0,25	1	4	12
» » 189	» 72	0,15	0	0	0,5	0	0	0,3	0	0	4
Tiere, welche einen Monat hindurch Schmirgelstaub einatmeten.											
Serie I. 13. März 1906											
Meerschw. Nr. 190	Stunden 12	0,2	176	880	0,5	590	1180	0,25	193	772	940
» » 191	» 24	0,2	17	85	0,4	60	200	0,3	6	20	101
» » 192	» 48	0,15	0	0	0,5	50	100	0,25	12	48	49
» » 193	» 72	0,15	0	0	0,4	30	75	0,3	0	0	25
Serie II. 21. März 1906.											
Meerschw. Nr. 194	Stunden 12	0,2	122	610	0,5	543	1086	0,3	216	720	805
» » 195	« 24	0,15	75	500	0,4	474	1185	0,25	102	408	697
» » 196	» 48	0,1	2	20	0,5	28	56	0,25	8	32	36
» » 197	» 72	0,2	0	0	0,4	16	40	0,25	12	48	29

die Schleimhäute entzündet und erosiert erwiesen. Dann infizierte er die Tiere subkutan mit dem Streptococcus pyogenes oder mit dem Staphylococcus pyogenes, und er fand eine Verminderung des Widerstandes gegen die Infektion von seiten dieser Tiere im Vergleich zu den Kontrolltieren. 26*

Daraus schlofs er, dafs der verlängerte Gebrauch des Alkohols eine Schwächung der natürlichen Verteidigung des Organismus gegen die Infektionskrankheiten herbeiführe.

Laitinen sah, nachdem er die Tiere Wochen und Monate hindurch alkoholisiert und ihnen verschiedene Arten pathogener Keime eingeimpft hatte, dafs die mit Alkohol behandelten Tiere starben, während die Kontrolltiere überlebten oder wesentlich später starben.

Auch Gruber ist infolge seiner Erfahrungen der Ansicht, dafs sich in den alkoholisierten Tieren eine Zunahme der Empfindlichkeit gegen Infektionen wie auch gegen Intoxikationen mit Bakterientoxinen bemerkbar mache.

Schliefslich fand auch Kögler eine Abnahme des Widerstandes der alkoholisierten Meerschweinchen gegenüber dem Pneumokokkus.

Im Widerspruch, der vielleicht nur anscheinend ist und wofür wir den vermutlichen Grund später sehen werden, befinden sich hingegen die Beobachtungen der im folgenden aufgezählten Experimentatoren.

Mircoli zeigte, dafs das Blutserum von Menschen, welche vom Alkohol häufig Gebrauch machten, ohne jedoch eigentliche Kranke des Alkoholismus zu sein, das Vermögen besitze, die Tuberkulinvergiftung in weit ausgesprochenerer Weise zu neutralisieren, als dies das Blutserum eines gesunden und starken Menschen imstande sei. Zugleich mit Gervino fand er in den Tieren, die gewöhnt worden waren, sich mit Alkohol zu ernähren, aufserdem die Vermehrung des Widerstandes gegenüber der tuberkulösen Infektion.

In einer anderen Reihe ähnlicher Nachforschungen fanden beide Beobachter, dafs das Blut des alkoholisierten Kaninchens von einem energischen bakteriziden Vermögen gegenüber dem Typhusbazillus im Vergleich zu dem Blutserum eines Kontrollkaninchens Besitz ergriffen habe, und ferner, dafs im gesamten Organismus eine Zunahme des Reaktions- und Resistenzvermögens der Gewebe gegen eine gegebene Infektion (Tuberkulose) zu beobachten sei; daher die beiden Forscher der Meinung sind,

dafs der Alkohol aufser irgendwelcher direkten Aktion, die er auf die Keime auszuüben vermöge, den Organismus anreize, zahlreichere und kräftigere bakterische Alexine auszuarbeiten.

Und als unbestreitbar bezeichnen sie den Umstand, dafs die Entziehung des Alkohols bei daran gewöhnten Personen eine gefährliche Sache sei, wenn dieselben von Infektionen (Lungenentzündung, Typhus) befallen wären.

Friedberger hat in Erwägung des Umstandes, dafs während Epidemien Trinker viel leichter den Infektionen erliegen, obschon anderseits der Alkohol von vielen als ein sehr aktives Schutzmittel angesehen wird, nachforschen wollen, in welcher Weise sich derselbe äufsere, wenn nur einmal verabfolgt oder lange Zeit hindurch. Er experimentierte mit den Vibrionen der Cholera. Zuvor inokulierte er den Kaninchen lange Zeit hindurch Alkohol, anderen hingegen verabfolgte er nur eine Dosis im Moment der Infektion; er infizierte dann alle Tiere zusammen und fand, dafs diejenigen, welche lange Zeit hindurch mit Alkohol behandelt worden waren, 16 mal weniger Schutzsubstanzen gegen die Cholera hervorbrachten als die Kontrolltiere, während die nur einmal mit Alkohol inokulierten Tiere bei der gleichen Infektion eine erhebliche Zunahme der Schutzsubstanzen aufwiesen.

Fränkel, der im Vorjahre die Versuche Friedbergers wiederholte, fand, dafs die mit einer einfachen Dosis Alkohol behandelten Tiere sich 5—10 mal widerstandsfähiger erwiesen als diejenigen, die seit langer Zeit Gebrauch davon machten; indessen beobachtete er auch, dafs, wenn die letzteren nach und nach infiziert wurden, sich dann bei ihnen ein gröfseres immunisierendes Vermögen erweisen liefs.

Die von mir auf der Suche nach den Umwandlungen, welche eventuell das Verteidigungsvermögen der Lungen gegen die Mikroorganismen infolge von Alkoholinokulationen erleiden könnte, angestellten Versuche wurden in drei Gruppen geteilt.

Bei den Tieren der I. Gruppe wurde zuerst die Einführung des B. prodigiosus in die Lungen vorgenommen und gleich darauf jedem derselben subkutan von 1,5—2 ccm wässeriger 45 proz. Alkohollösung alle 12 Stunden bis zum Augenblick inokuliert.

Tabelle IX.

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Apix rechter Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Apix rechter Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie: Geprüft. Vol. in ccm	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. großer Bronchie: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Basis der linken Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Basis der linken Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Basis der linken Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
1. Gruppe.											
Serie I. 12. April 1906.											
Meerschw. Nr. 198	Stunden 12	0,2	19	95	0,4	339	847	0,3	150	500	48
» » 199	» 24	0,25	20	80	0,4	24	60	0,3	6	20	53
» » 200	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie II. 21. April 1906.											
Meerschw. Nr. 205	Stunden 12	0,1	28	280	0,4	465	1162	0,25	275	1100	848
» » 206	» 24	0,2	8	40	0,5	68	136	0,2	26	130	102
» » 207	» 48	0,2	3	15	0,4	0	0	0,3	0	9	5
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serie III. 3. Mai 1906.											
Meerschw. Nr. 212	Stunden 12	0,1	182	1820	0,4	474	1185	0,3	199	633	1212
» » 213	» 24	0,2	102	510	0,5	5	12	0,35	10	32	184
» » 214	» 48	0,1	0	0	0,3	0	0	0,2	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Tiere der II. und III. Gruppe wurden hingegen anderthalb Monat vor dem Innest alkoholisiert, indem ihnen alltäglich 1,5—2 ccm der oben erwähnten Alkohollösung injiziert wurde; nach dieser Zeit liefs ich sie in bekannter Weise den B. prodigiosus einatmen. Bei denjenigen der II. Gruppe setzte ich die Alkoholinokulationen auch nach dem Innest fort, während ich sie hingegen bei jenen der III. Gruppe unterbrach. Bezüglich des übrigen habe ich die Technik gebraucht, wie ich sie in den voraufgegangenen Kapiteln beschrieb.

Ich bemerke gleich, dafs sich die Tiere der II. und III. Gruppe nach etlichen Alkoholinokulationen lascher und weniger nach

Tiere, welche täglichen Einimpfungen von 4 ccm alkoholischer Lösung von 45% nach dem Innest des B. prodigiosus unterzogen wurden.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht unt. Lappens m großer Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	
1. Gruppe.											
Serie I. 12. April 1906.											
Meerschw. Nr. 201	Stunden 12	0,15	3	10	0,45	162	360	0,3	33	110	160
» » 202	» 24	0,1	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
» » 203	» 48	0,15	0	0	0,4	0	0	0,35	0	0	0
» » 204	» 72	0,1	0	0	0,5	0	0	0,3	0	0	0
Serie II. 21. April 1906.											
Meerschw. Nr. 208	Stunden 12	0,1	42	420	0,4	268	670	0,3	115	380	490
» » 209	» 24	0,15	0	0	0,4	0	0	0,3	28	93	31
» » 210	» 48	0,15	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
» » 211	» 72	0,15	0	0	0,5	0	0	0,4	0	0	0
Serie III. 3. Mai 1906.											
Meerschw. Nr. 215	Stunden 12	0,15	122	812	0,55	453	822	0,3	151	503	712
» » 216	» 24	0,1	5	50	0,4	31	77	0,3	3	10	45
» » 217	» 48	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
» » 218	» 72	0,1	0	0	0,6	0	0	0,3	0	0	0

Nahrung begierig als die anderen erwiesen. — Die Resultate der Versuche sind in den Tabellen IX und X vorgetragen.

Aus der vergleichenden Prüfung der oben genannten Tabellen ergibt sich:

I. Dafs sich in den Tieren, die mit Alkohol erst nach der Einführung des B. prodigiosus in die Lungen behandelt wurden, eine beachtenswerte Zunahme des gegen die Mikroorganismen gerichteten Vernichtungsvermögens von seiten der Lungen ergab, da 24 Stunden nach dem Innest dieselben Keime fast alle aus den Lungen verschwunden sind, während sich eine solche Zahl nach

Tabelle X.

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Apix rechter Lunge: Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Apix rechter Lunge: Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	An der Hälfte des recht. unt. Lappens m. grofser Bronchie: Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Basis der linken Lunge: Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
					II. Gruppe.						
					Serie I. 9. Juni 1906.						
Meerschw. Nr. 219	Stunden 12	0,2	120	600	0,25	216	864	0,25	160	640	701
» » 220	» 24	0,1	6	60	0,4	43	107	0,25	49	196	121
» » 221	» 48	0,2	0	0	0,5	8	16	0,3	0	0	5
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
					Serie II. 15. Juni 1906.						
Meerschw. Nr. 226	Stunden 12	0,1	70	700	0,5	460	920	0,2	128	640	753
» » 227	» 24	0,2	22	110	0,4	36	90	0,25	52	208	136
» » 228	» 48	0,15	0	0	0,3	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
					III. Gruppe.						
					Serie I. 9. Juni 1906.						
Meerschw. Nr. 219	Stunden 12	0,2	120	600	0,25	216	864	0,25	160	640	701
» » 220	» 24	0,1	6	60	0,4	43	107	0,25	49	196	121
» » 221	» 48	0,2	0	0	0,5	8	16	0,3	0	0	5
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
					Serie II. 15. Juni 1906.						
Meerschw. Nr. 226	Stunden 12	0,1	70	700	0,5	460	920	0,2	128	640	753
» » 227	» 24	0,2	22	110	0,4	36	90	0,25	52	208	136
» » 228	» 48	0,15	0	0	0,3	0	0	0,3	0	0	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

solcher Zeitperiode in den Kontrolltieren noch wesentlich höher erweist.

II. Dafs in den Tieren, welche geraumere Zeit hindurch vor dem Experimental-Innest der Bazillen Gebrauch von

Wirkung des Alkohols.

Tiere, welche täglichen Einimpfungen von 2 ccm alkoholischer Lösung von 45% unterzogen wurden.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge			An der Hälfte des recht unt. Lappens m grofser Bronchie			Basis der linken Lunge			Durchschnittszahl der gefundenen B. prodig. pro ccm Lunge
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berech. Kol.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl der gezählten Kolon. von B. prodig.	Zahl der auf 1 ccm Lunge berechn Kol.	
II. Gruppe. Die Alkoholeinimpfungen wurden auch nach dem Innest des B. prodigiosus ausgeführt.											
Serie Ic. 9. Juni 1906.											
Meerschw. Nr. 222	Stunden 12	0,1	75	750	0,25	180	720	0,2	165	825	675
» » 223	» 24	0,2	10	50	0,4	167	417	0,3	86	286	251
» » 224	» 48	0,15	0	0	0,3	0	0	0,3	0	0	0
» » 225	» 72	0,2	0	0	0,3	0	0	0,4	0	0	0
Serie II. 15. Juni 1906.											
Meerschw. Nr. 229	Stunden 12	0,2	102	510	0,5	395	790	0,25	96	384	561
» » 230	» 24	0,1	26	260	0,25	32	128	0,4	40	100	162
» » 231	» 48	0,1	0	0	0,3	9	30	0,25	1	4	11
» » 232	» 72	0,2	0	0	0,4	0	0	0,3	0	0	0
III. Gruppe. Folgenden Tierserien wurden nach dem Innest des B. prodigiosus die Alkoholeinimpfungen eingestellt.											
Serie I. 9. Juni 1906.											
Meerscew. Nr. 233	Stunden 12	0,2	210	1500	0,5	468	936	0,25	365	1460	1298
» » 234	» 24	0,15	40	264	0,3	165	550	0,2	42	210	341
» » 235	» 48	0,1	5	50	0,5	7	14	0,2	4	20	28
» » 236	» 72	0,1	0	0	0,4	4	10	0,3	6	20	10
Serie II. 15. Juni 1906.											
Meerschw. Nr. 237	Stunden 12	0,2	146	730	0,15	210	840	0,2	190	950	840
» » 238	» 24	0,15	20	132	0,5	320	640	0,25	51	204	325
» » 239	» 48	0,1	3	30	0,4	48	120	0,2	12	60	70
» » 280	» 72	0,1	0	0	0,3	9	30	0,3	3	10	13

Alkohol machten und letzteren auch danach noch fortsetzten, die Zahl von B. prodigiosus, die in ihren Lungen gefunden ward, im Vergleich zu den Kontrolltieren nahezu gleich oder um wenig höher war.

III. Dafs in den Tieren, welche wie ihre Vorgänger und in gleichem Zeitraum mit Alkohol behandelt wurden, bei denen aber nach dem Innest des B. prodigiosus die Verabfolgung des Alkohols eingestellt wurde, eine gröfsere Anzahl des B. prodigiosus in den Lungen als bei den Kontrolltieren aufzufinden war, und ferner eine Zunahme in der für die völlige Zerstörung aufgewendeten Zeit.

Deshalb darf man schliefsen, dafs die Verabreichung von Alkohol bei Tieren, die nicht daran gewöhnt sind oder, besser gesagt, die vom Alkohol keinerlei Schaden erfuhren, eine Zunahme der Verteidigungskraft der Lungen gegen die eingedrungenen Mikroorganismen zur Folge hat. In den Tieren hingegen, welche den fortgesetzten Injektionen von Alkohol unterzogen wurden, erscheint dies Vermögen wenig abgeändert, bei denjenigen, welche den Alkoholgebrauch auch nach dem Eindringen der Keime fortsetzten, während es bemerkenswert abnimmt in denen, welchen der Alkohol plötzlich entzogen wurde.

Eine vernünftige Auslegung der oben vorgeführten Tatsachen läfst sich nach meiner Meinung finden, indem man dem Alkohol mit den früher erwähnten Autoren eine anreizende Aktion auf das Verteidigungsvermögen der Lungen zugesteht, wie auch in Anerkennung des Faktums, dafs der Alkohol auch ein mikrobizides Vermögen besitzt, so dafs es bei seiner teilweisen Elimination durch die Lungen nicht unmöglich ist, dafs er in diesem Organe auch eine direkte schädigende Aktion auf die darin befindlichen Mikroorganismen auszuüben vermöge.

Und wenn er auch bei der Dosis, mit welcher der aufgenommene Alkohol durch die Lungen eliminiert wird, keine eigentliche desinfizierende Aktion zu entfalten vermag, ist doch seine antiseptische Aktion bereits genügend, um die Mikroorganismen in Konditionen gröfserer Inferiorität gegenüber dem natürlichen bakteriziden Vermögen des Lungenbereiches zu setzen. Dies für den ersteren Fall.

Für die anderen beiden hingegen ergibt sich, dafs aus dem übermäfsigen und lange dauernden Gebrauch des Alkohols eine Verminderung des mikrobiziden Vermögens der Lungen abzuleiten ist, die um so deutlicher wird, wenn mit der Entziehung des Alkohols u. a. auch jene antiseptische Aktion fehlt, die wir jener Dosis von Alkohol, welche durch die Lungen zur Ausscheidung gelangt, zugestanden.

Dergestalt ans Ende meiner Untersuchungen gelangt, fasse ich knapp die Hauptergebnisse zusammen:

I. Die gesunden Lungen der Versuchstiere und in normalen Verhältnissen gehaltenen Tiere besitzen ein energisches Zerstörungsvermögen gegenüber den in die Lungen gedrungenen Mikroorganismen.

II. Eine lange Exponierung der Tiere gegenüber der Kälte, die schnellen Temperaturübergänge (0° bis + 30° C), das Bad, auch bei verhältnismäfsig hoher Temperatur (+ 30° C), die Muskelermüdung, die Traumen, die Staubinhalationen, zumal wenn es sich um harten Staub handelt, bedingen Modifikationen solcher Art, dafs sie jenes natürliche Verteidigungsvermögen herabsetzen, mit welchem die Lungen in normalem Zustande ausgerüstet sind.

III. Längere Einwirkung der Wärme (+ 30° — 35° C) modifiziert solche Lungenfunktion nicht.

IV. Der in nicht giftig wirkender Dosis und an vorher nicht alkoholisierte Tiere verabreichte Alkohol bringt die Schutzkraft der Lungen gegen die Mikroorganismen zum Ansteigen, während er dieselbe nahezu normal erhält in den seit längerem alkoholisierten Subjekten, bei denen die mäfsige Alkoholverabreichung während und nach dem Eindringen der Keime fortgesetzt wird, und er schwächt diese Schutzkraft hingegen in beträchtlicher Weise ab, wenn er schnell solchen Individuen entzogen wird, die an seine Aufnahme gewöhnt waren.

Damit will ich nicht direkt auf den Menschen die Ergebnisse meiner an Tieren vorgenommenen Versuche zur Anwendung bringen, was vorschnell und unberechtigt wäre, denn sehr verschieden sind die Vorbedingungen, unter denen sich das Experiment vollzieht, von denjenigen der menschlichen Klinik. Jedoch kann man nicht umhin, den Versuchen auch in dieser Hinsicht einen gewissen Wert beizumessen, wenn man in Betracht zieht, dafs einige der oben hervorgehobenen Resultate bereits mit klinischen Beobachtungen zusammengehen, die aus solchem Anlafs angestellt wurden, und dafs sie eine plausible Erklärung für eine hübsche Anzahl von Tatsachen geben, welche die alte medizinische Praxis immer beobachtete.

Experimentelle Staubinhalationserkrankungen der Lungen.

Von

Dr. C. Lubenau,

Assistent am Sanatorium.

(Aus dem Laboratorium des Sanatoriums Beelitz der Landesversicherungsanstalt Berlin. Chefarzt: Dr. Pielicke.)

Über die Gefährlichkeit der verschiedenen, bei der Industrie sich entwickelnden Staubsorten hat man sich ein Urteil bisher in der Weise verschafft, dafs die Ausdehnung der Lungentuberkulose unter den Arbeitern, die den einzelnen Staubarten bei ihrer Beschäftigung ausgesetzt sind in erster Linie als Mafsstab genommen wurde.

Dafs ein inniger ursächlicher Zusammenhang zwischen dieser und der Staubeinatmung besteht, ist schon längst durch die zahlreichen statistischen Beobachtungen, die in den einschlägigen Handbüchern oft zitiert werden, wohl aufser Frage gestellt.

Diese Statistiken haben ohne Zweifel auf dem Gebiete der Gewerbehygiene den gröfsten praktischen Wert, indem sie gerade auf die Bekämpfung der Lungentuberkulose, um die sich die Frage des Arbeiterschutzes vornehmlich dreht, hinzielen.

Dabei wird nicht unbeachtet gelassen, dafs keineswegs alle Staubsorten nur dadurch, dafs sie die Entstehung spezifisch tuberkulöser Prozesse fördern, gefährlich werden können. Bekannt sind ja schon längst die häufigen Lungenentzündungen,

die durch Thomasschlackenstaub hervorgerufen werden, und die durch ihren schweren, oft rapiden Verlauf berüchtigt sind; bekannt sind auch die schweren, chronischen Entzündungen der Bronchien und das Lungenemphysem, die den Staubarbeiter nur zu oft erwerbsunfähig machen.

Indes variieren die Anschauungen der Autoren über den Grad der Gefährlichkeit der verschiedenen Staubsorten ganz erheblich; so ist man sich über die Gefährlichkeit des Holzstaubes noch nicht klar (Roth S. 171); desgleichen wechseln die Anschauungen über den Sandstein, der in der Industrie sehr verbreitet ist und dessen Bestandteile sich im Chausseestaub und Strafsenstaub finden. Während Wegmann meint, dafs dieser Staub, dessen Hauptbestandteil ein rundes Korn darstellt, eigentlich nur durch seine Menge gefährlich werden kann, an und für sich aber zu den mehr reizlosen Arten gerechnet werden mufs, betont Sommerfeld schlechthin nach Tabellen, die er über die Lungentuberkulose solcher Arbeiter verfertigte, die Gefährlichkeit desselben; letztere wird indes mit der jeweiligen Zusammensetzung des Sandsteins schwanken. Die harten Sorten desselben entwickeln nach Roth (S. 118) einen Staub, der zahllose Spitzen und scharfkantige Trümmer aufweist und daher zu den gefährlichsten Sorten rechnet; mit einem derartigen Staub experimentierte augenscheinlich auch Arnold (S. 60).

Wegmann will überhaupt die Wirkung des Staubes nur auf seine mechanische Reizung zurückführen und klassifiziert nach derselben die verschiedenen Staubarten; indes bestehen manche Ausnahmen von dieser Regel (Rubner S. 711); so besitzt ja auch der Kohlenstaub viele scharfkantige, spitze Trümmer, ist aber entschieden weniger gefährlich (Roth S. 141).

Zur Klärung dieser Verschiedenheiten in der Anschauung über die spezielle Gefährlichkeit jeder Materie sind nun gerade die Statistiken über die Lungentuberkulose der Staubarbeiter nur mit gewisser Vorsicht zu gebrauchen. Dieselben repräsentieren nicht nur die Schädigungen, die durch die Einwirkung des Staubes erzeugt werden, sondern spiegeln auch alle anderen ungesunden Einflüsse wieder, die den verschiedenen Berufszweigen

eigen sind. Auch die erbliche Veranlagung zur Lungentuberkulose ist hierbei nicht zu vergessen, und wo diese Disposition fehlt, machen sich oft genug andere schädliche Lebensgewohnheiten im speziellen, wie der Alkoholismus, geltend.

Durch die eben erwähnten Statistiken ist man z. B. auch zu einer irrigen Anschauung über die Schädlichkeit des Staubes in Wollwebereien gelangt; es hat sich nämlich gezeigt, daſs für die so auſserordentlich verbreitete Lungentuberkulose unter dieser Arbeiterklasse weniger der Staub dieses Industriezweiges verantwortlich zu machen ist, sondern die unzureichenden Existenzbedingungen der Arbeiter; und es ist in der Tat auch gelungen, durch Aufbesserung der Ernährungs- und Wohnungsverhältnisse der Bevölkerung den berüchtigten Wollweberstaub zum gröſsten Teil seiner Gefährlichkeit zu entkleiden (Albrecht S. 67).

Einen klareren Einblick in diese Verhältnisse erlangt man erst durch vergleichende Experimente mit den verschiedenen Staubarten.

Derartige Versuche liegen eigentlich noch nicht in gröſserer Zahl vor; so erstrecken sich z. B. die klassischen Experimente von Arnold nur auf den Vergleich von Ruſs, Schmirgel, Sandstein und Ultramarin. Diese enge Umgrenzung der Versuche hat auch zu Irrtümern geführt; so ist Arnold zu der Anschauung gekommen, daſs die meisten Staubarten erst nach längerer (monatelanger) Einwirkung tiefer greifende Veränderungen (worunter nach seinen Ausführungen die chronischen peri- und interalveolären, die perivaskulären und peribronchalen Infiltrationsherde zu verstehen sind) hervorrufen, während vorübergehende Einatmungen entweder ohne Störungen bleiben oder diese bald wieder ausgeglichen werden.

Dieser Anschauung tritt unter anderen auch Albrecht bei; nach Exposition von einer Woche habe ich dagegen durch Schamotte, Thomasschlacke und Kalkspat die schwersten chronischen Lungenveränderungen, die allerdings sich erst innerhalb von einigen Wochen nach dem Aussetzen der Inhalation entwickeln, entstehen sehen, während andere Staubarten sich viel weniger oder nahezu als ungefährlich (Ruſs) erwiesen.

Auch dafs Arnold die akuten Prozesse schlechtweg zu den akzessorischen Veränderungen in den Lungen rechnet, worunter zu verstehen ist, dafs dieselben nicht direkt durch den Reiz des Staubes herbeigeführt werden, ist eine zu vage Auffassung, die schon längst durch die anerkannte Tatsache überholt ist, dafs es einzelne Staubarten gibt, ganz besonders die Thomasschlacke, die die Erzeugung von schweren, akuten Lungenentzündungen zum Charakteristikum haben.

Bei Versuchen mit organischen Staubarten wäre Arnold auch nicht entgangen, dafs dieselben gerade durch Erzeugung akuter, heftiger, eitriger Bronchialkatarrhe gefährlich werden können; in erster Linie sind hier die harten Holzarten zu nennen.

Im folgenden sind vergleichende Versuche mit 28 verschiedenen Staubarten ausgeführt, die der mineralischen, metallischen und organischen Ordnung angehören.

Mineralische Staubarten: Schamotte, Thomasschlacke, Zement, Granit, Sandstein, Glas, Porzellan, Gips, Ziegelstein, Chausseestaub (in sterilisiertem und nicht sterilisiertem Zustande; wegen seines Gehaltes an tierischen und Pflanzen-Beimengungen bildet er ein Gemisch von mineralischem und organischem Staub).

Durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Sommerfeld, dem ich an dieser Stelle noch meinen ergebensten Dank ausspreche, erhielt ich aufserdem Bohrmehle von sechs verschiedenen Gesteinsarten, wie sie beim Bergbau und bei der Gewinnung der Erze als Staub der Luft sich mitteilen: Blende (besteht aus Schwefelmetallen, wenig spröde, weicher als Kalkspat); Kalkspat (Härte 3; kohlensaurer Kalk, enthält auch Quarzsand); Galmei (kieselsaures Zinkoxyd, Härte 5); Tonschiefer und Grauwacke gemischt (Grauwacke rechnet zum Sandstein); Erzgestein (bei dem der Gehalt an Erzen überwiegt); Dolomit und Bleiglanz. (Dolomit = Kalzium — Magnesium-Karbonat; Härte 3,5 bis 4,5; Bleiglanz = Schwefelblei, enthält auch Silber, Eisen etc.; Härte 2,5; wird auf Silber verhüttet.)

Metallische Staubarten: Eisen, Bronze.

Organische Staubarten: Tabak, Staub aus einer Getreidemühle (enthält auch viel mineralische Bestandteile), Hanf, Leder, Holz (von Piment); Horn, Elfenbein, Filz von amerikanischem Kälberhaar, Papier, Kohlenrufs.

Ehe die mit diesen Staubarten gewonnenen Resultate besprochen werden, mufs auf den Apparat eingegangen werden, der zu den Versuchen diente.

Die Tiere atmen den Staub unter einer geräumigen Glasglocke ein, wie sie zu diesem Zwecke schon von anderen Autoren benutzt wurde. Die Glocke wird an eine Wasserstrahlluftpumpe angeschlossen und vermittelst dieser die Luft, der der Staub beigemischt wird, in die Glocke gesogen.

Um den Staub, damit er sich der Luft beimischt, aufzuwirbeln, dient folgende einfache Vorrichtung: ein Erlenmeyer-Kolben (hohe Form) von ca. 750 ccm Inhalt wird mit einem Kautschukpfropfen verschlossen; letzterer hat zwei Durchbohrungen. Durch das eine Loch geht ein kurzes U-förmiges Rohr, dessen einer in dem Pfropfen steckender Schenkel mit dem Niveau desselben etwa abschliefst, während der andere Schenkel des Rohres frei in der Luft endigt; durch das zweite Loch des Pfropfens geht ein langes, rechtwinkelig gebogenes Glasrohr, dessen innerer langer Schenkel bis nahe an den Boden des Kolbens führt, während der äufsere Schenkel zur Verbindung mit der Glocke dient. In diesen Kolben kommt eine bestimmte, genau abgemessene Raummenge Staub, bei meinen Versuchen 150 ccm; sodann wird derselbe mit der durch den Kautschukpfropfen verschlossenen Öffnung nach unten an ein Stativ befestigt; auf diese Weise schliefst der über dem Kautschukpfropfen lagernde Staub das kurze Glasrohr ab, und indem durch letzteres beim Gange der Luftpumpe Luft eingesogen wird, wird der Staub aufgewirbelt; es bildet sich dadurch im obersten Teil des Erlenmeyer-Kolbens eine Staubatmosphäre, in welche das lange Glasrohr (das übrigens oben abgeschlossen ist, dagegen eine seitliche Offnung am oberen Ende erhält) ragt und die mit Staub gemischte Luft in die Glasglocke führt; letztere wird auf ihrer Unterlage mit Paraffin luftdicht abgeschlossen.

Es ist notwendig, zwischen Glasglocke und Luftpumpe noch zwei grofse Flaschen anzubringen. Die eine, der Luftpumpe zunächst angebrachte Flasche wird halb mit Wasser gefüllt und dient dazu, den aus der Glocke abgesogenen Staub abzufangen, indem letzterer vermittelst eines langen Zuführungsrohres durch das Wasser geleitet wird; das abführende Rohr ist kurz.

Die zweite leere Flasche, der Glocke zunächst angebracht, dient einfach als Rückschlagventil, um das Eindringen von Wasser in die Glasglocke zu verhindern, hat also ein kurzes zuführendes und ein langes abführendes Rohr.

Um Druckschwankungen infolge von Verstopfung der verbindenden Gummischläuche leicht zu erkennen, bringt man noch einen Atmosphärenmesser zwischen den beiden zuletzt genannten Flaschen an.

Es ist keineswegs leicht, die verschiedenen Staubsorten gleichmäfsig aufzuwirbeln, wie es bei vergleichenden Experimenten als Vorbedingung verlangt werden mufs. Je nach der Schwere des Staubes mufs der Gang der Luftpumpe eingerichtet werden; besonders für die schweren Staubsorten ist es notwendig, dem Rohre, das den Staub in die Glasglocke einführt, im Inneren derselben eine Biegung nach dem Dache zu geben, so dafs der Staub zuerst gegen die Decke der Glocke geschleudert wird und sich somit in der Luft gleichmäfsiger verteilt, als wenn er aus dem zuführenden Rohre ohne weiteres in die Glocke schüttet. Die Absaugung der Luft aus der Glocke geschieht durch ein langes Glasrohr, das bis auf den Boden der Glocke reicht.

Für einige Stäubsorten organischen Ursprunges, die leicht zusammenbacken, besonders das Mehl, bedurfte es noch eines Schüttelapparates; derselbe bestand, mutatis mutandis, wie bei Arnold, darin, dafs ein an der Achse einer Wasserturbine exzentrisch angebrachter Griff gegen einen Holzstab schlug, der an dem Erlenmeyer-Kolben (dem Staubentwickler) befestigt war. Dieser Schüttelapparat hatte nur den Zweck, den Mehlstaub wieder zusammenfallen zu lassen, wenn sich in demselben ein Luftkanal gebildet hatte, durch den die Luft, ohne den Staub aufzuwirbeln, strömte.

Die verschiedenen Staubsorten müssen in möglichst gleichmäfsiger und feinster Beschaffenheit vorliegen; zu diesem Zwecke werden die groben Körnchen mit einem sehr feinen Haarsieb abgesiebt. Von jeder Art sind 2—4 Liter feinsten Staubes nötig, den zu beschaffen bisweilen mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden war; eventuell kann man sich mit dem Zerkleinern gröberer Körner im Mörser, bei Filz etc. in einer Schneidemaschine, soweit es angeht, helfen.

Die Dichte der Staubatmosphäre in dem Staubentwickler kann nur mittels des Augenmafses bestimmt werden; im ganzen kann man sich bei gleichmäfsiger Einstellung der Wasserluftpumpe, indem die Öffnung des Hahnes markiert wird, auch auf einen annähernd gleichmäfsigen Gang des Apparates verlassen; immerhin ist ein gewisses Sicheinarbeiten notwendig.

Die Gleichmäfsigkeit der Versuchsbedingungen wird indes vornehmlich durch die Mafsregel gewahrt, dafs in den Staubentwickler eine genau abgemessene Raummenge des Staubes (150 ccm) gefüllt wird, die an jedem Tage zu verbrauchen ist.

Die Expositionszeit betrug bei meinen Versuchen ausschliefslich eine Woche, und zwar atmeten die Tiere nur während des Tages 12 Stunden den Staub ein, zur Nacht kamen sie in den Käfig.

Bei 28 Staubsorten zogen sich die Versuche demnach etwa 10 Monate hin.

Jedesmal wurden 3—4 Tiere zugleich exponiert, und daher hauptsächlich Meerschweinchen, vereinzelt auch kleine Kaninchen, zu den Experimenten gewählt, um die Tiere bequem unter der Glocke unterbringen zu können.

Die in 5proz. Formalinlösung fixierten Lungen wurden derart verarbeitet, dafs von jedem einzelnen Lungenlappen Schnitte angefertigt wurden, und zwar gingen dieselben durch die ganze Fläche der Lappen, indem der Hauptbronchus mit den grofsen Gefäfsstämmen in der Längsrichtung getroffen wurde. Auf diese Weise ist man am ehesten in der Lage, sich ein vergleichendes Bild von den Gewebeveränderungen einerseits und der Staubablagerung anderseits zu machen.

Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin gefärbt, zum Teil ungefärbt eingebettet; von jeder Lunge wurden aufserdem Präparate mit der Elastinfärbung Weigerts hergestellt.

Das sicherste Urteil über die Intensität des Reizes eines Staubes erhält man, wenn die Ausdehnung der Gewebeveränderungen jedesmal mit dem Staubreichtum der Lunge in Vergleich gezogen wird; je geringer die ersteren sind, je gröfser aber der letztere, als desto inoffensiver mufs der Staub gelten; an Hand dieser Richtschnur ist man imstande, auch noch Fehler, die durch den Inhalationsapparat nicht ganz umgangen werden konnten, zu korrigieren.

Allerdings mufs man dabei der Staubreinigung der Lungen in gemessener Weise Rechnung tragen. Es ist Arnolds Verdienst, auf die Bedeutung derselben als erster hingewiesen zu haben.

Der gröfste Teil des eingeatmeten Staubes wird bekanntlich durch den Flimmerstrom der Bronchialschleimhaut aus den Lungen wieder entfernt; es handelt sich dabei im wesentlichen um den Staub, der in die Luftwege bis in die Alveolen aber noch nicht in das interstitielle Gewebe gedrungen ist; ob letzterer wieder in die Bronchien abgeschieden und auf dem eben erwähnten Wege auch entfernt werden kann, ist nach Arnolds Untersuchungen noch zweifelhaft. Diese Elimination des Staubes tritt alsbald nach der Inhalation ein, im allgemeinen um so schneller, je intensiver der Staub reizt; zugleich findet ein Transport des im interstitiellen Gewebe abgelagerten Staubes in die Lymphdrüsen am Hilus der Lunge statt; auf diese Weise wird hauptsächlich der interstitiell abgelagerte Staub eliminiert; schon nach einigen Stunden kann man denselben in den Bronchialdrüsen nachweisen; dieser Transport hält auch nach dem Aussetzen der Inhalation an, so dafs die Lunge nahezu völlig wieder gereinigt werden kann.

Für die Versuche ergibt sich daraus die Lehre, falls man nicht Täuschungen über den Staubgehalt im Vergleich mit den Krankheitsprozessen anheimfallen will, eines der Versuchstiere unmittelbar nach dem Aussetzen der Inhalation zu töten, falls

nicht ein Tier während der Exposition zugrunde gegangen ist. Die übrigen beiden Tiere werden erst nach Ablauf eines halben Jahres etwa getötet und dienen dem Studium der durch den Staub hervorgerufenen chronischen Lungenveränderungen.

Es würde zu weit führen, die Befunde bei den ca. 100 Versuchstieren protokollarisch wiederzugeben, vielmehr sollen nur die bei den einzelnen Staubarten gefundenen wesentlichen Veränderungen summarisch beschrieben werden.

Der Beurteilung der Gefährlichkeit der verschiedenen Substanzen sind vornehmlich die chronischen Lungenveränderungen zugrunde gelegt, die in ihrer Entstehung eine gröfsere Konstanz zeigen als die akuten Pneumonien, deren Bedeutung deswegen aber nicht verkannt werden soll.

Mineralischer Staub.

Unter den mineralischen Staubarten haben sich sowohl was die Entstehung akuter Lungenentzündungen anbetrifft, als auch in bezug auf chronische Veränderungen bei weitem am gefährlichsten erwiesen, Schamotte, Thomasschlacke, Kalkspat, Erzgestein, Dolomit und Bleiglanz.

Besonders die beiden ersteren Staubarten führten wiederholt zu Bronchopneumonien, u. zwar starben infolge von Schamotte-Einatmung von 5 Versuchstieren 3 derselben am 3. oder 4. Tage. Entweder waren neben bronchopneumonischen Herden ganze Lappen grau infiltriert (Meerschweinchen 22 rechter Unterlappen; Meerschweinchen 91 rechter Unterlappen und Mittellappen), oder es überwogen überhaupt die Bronchopneumonien; letzteres war auch der Fall bei der Einatmung von Thomasschlacke, wobei unter 4 Versuchstieren 2 derselben an multipler Bronchopneumonie starben, welche die Oberlappen bevorzugte. Erzgestein führte nur einmal zum Tode an multipler Bronchopneumonie.

Chronische Veränderungen: Die ausgedehntesten Infiltrationen wurden auch hier wieder mit Schamotte erzielt und zwar zeigten bei einem Meerschweinchen 90 (Exposition 1 Woche, Tod nach 10 Wochen spontan) alle Lungenlappen eine derbe voluminöse Beschaffenheit und ausgesprochen graue

Farbe; Hilusdrüsen enorm geschwollen und verbacken; diffuse, starke, eitrige Bronchitis. An den mikroskopischen Schnitten erkennt man schon mit blofsem Auge deutlich, dafs die Hälfte bis Dreiviertel der Lungenlappen ziemlich gleichmäfsig und zusammenhängend verödet ist; im Zentrum der Herde besteht das Gewebe aus zellarmem Bindegewebe, wodurch es ein gewisses Alter gegen die am Rande befindlichen Infiltrationsbezirke aufweist, die sehr zellreich sind und starke Wucherung und Desquammation der Alveolarepithelien zeigen neben gleichzeitiger Verdickung des interstitiellen Gewebes, in dem stellenweise gröfsere Rundzellenherde lagern; kleine nekrotische Inseln sind häufig sichtbar, von der Umgebung gar nicht abgesetzt, sondern sich nur durch den Mangel der Kernfärbung verratend und durch Kerntrümmer, die vielfach zu grofsen Kernklumpen verschmolzen sind. Die Bronchialwand ist stark infiltriert, so dafs ihre Struktur oft ganz verwischt ist. Im rechten Unterlappen befinden sich zwei linsengrofse Kawernen, die gegen die Umgebung sich nur durch einen breiten Ring nekrotischen Gewebes absetzen; letzterer ist seinerseits mit Leukozyten durchsetzt. Der Staubgehalt der Lungen ist ein geringer (Staubreinigung). Die Hilusdrüsen sind in ausgedehntem Mafse fibrös umgewandelt und enthalten besonders in den Drüsenkapseln reichlich Staubzellen und freien Staub.

Geringer sind die Veränderungen bei einem Kaninchen 10 (Exposition 1 Woche, Tod nach 16 Wochen spontan) und kommen etwa denen bei der Thomasschlacke gleich.

Thomasschlacke: (M. 85, K. 7[1]), Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr). In fast jedem Lungenlappen sind ausgedehnte Flächen verödet, jedoch überwiegen über diese noch immer die lufthaltigen Partien, deren interstitielles Gewebe allerdings auch durch Rundzellen oder Staubzellen infiltriert ist; auch in den Indurationsherden sind noch unregelmäfsig erweiterte Alveolen sichtbar. Auffallend ist die starke Hyperämie sämtlicher Lappen; kapillare und kleine Gefäfse sind strotzend gefüllt. Die Bronchien enthalten ein sehr zellreiches Exsudat und weisen vielfach Blutungen auf. Die elastischen Fasern sind in den infiltrierten Bezirken im Schwunde begriffen; der Staub ist vielfach herdförmig abgelagert, so dafs unter der Pleura und auf der Schnittfläche überall stecknadelkopfgrofse, braune Flecke

1) M = Meerschwein, K = Kaninchen.

sichtbar sind. Die Staubzellen stopfen oft ganze Alveolengruppen prall aus (Staubpfröpfe.) Da die Thomasschlacke viel Eisen enthält, kann man sich durch die Reaktion mit Berliner Blau die Staubverteilung noch deutlicher machen.

Kalkspat: M. 62 (Exposition 1 Woche, sofort getötet). Reichliche Staubablagerung (feinkörniger Staub) im interstitiellen Gewebe; eitrige Bronchitis, sonst alveoläres Parenchym sehr gut erhalten.

M. 14 u. 61 (Exposition 1 Woche, getötet nach 1/2 Jahr.) Sämtliche Lungenlappen sind von Infiltrationsherden durchsetzt, die oft die Hälfte der Lappen okkupieren und sich hauptsächlich um die Bronchien gruppieren; neben Rundzelleninfiltration fällt die sehr starke Wucherung der Alveolarepithelien, die stellenweise ganz überwiegt, besonders auf; vielfach enthalten die Alveolen Kalkkonkremente, die, wie zahlreiche Übergangsformen beweisen, durch Haufen von verkalkten Epithelien zustandegekommen sind. Die Bronchien enthalten ein wenig zellreiches Exsudat und einzelne Kalkkonkremente. Der Zylinderzellensaum ist überall sehr gut erhalten. Die Hilusdrüsen sind aufs dichteste mit epithelialen Staubzellen, die jedoch nur noch zum Teil feinkörnigen Staub führen, vollgepfropft, so dafs das lymphoide Gewebe auf einzelne Inseln beschränkt bleibt.

Erzgestein: M. 15 u. 71 (Exposition 1 Woche, getötet nach 1/2 Jahr). Staubzellen finden sich reichlich im Interstitium; gröfsere, verödete Bezirke nur in einzelnen Lappen, hier die Hälfte bis Dreiviertel derselben okkupierend mit stellenweise starker Hyperämie, starker Bronchitis und Ablagerung von Staubzellen auch in den Alveolen; im übrigen erstreckt sich die Infiltration auf kleinere Inseln, die sich um Bronchien gruppieren. Dagegen ist bei M. 15 der rechte Mittellappen in einen derben Knoten verwandelt, der aus faserigem Bindegewebe besteht, mit Rundzellenherden durchsetzt, nirgends mehr alveolare Struktur aufweist, aber von zahlreichen, dicht stehenden Bronchialästen durchzogen wird; dieselben sind gebuchtet, ausgezogen, gelappt, vielfach verzweigt und erwecken den Eindruck adenomatöser Wucherungen (vielleicht analog der vikariierenden Wucherung der Gallengänge bei Leberzirrhose). Sämtliche Bronchiallumina sind mit desquammierten Zylinderepithelien oder mit Rundzellen vollgepfropft. Eine alveoläre Struktur erkennt man nur noch hier und da im Bilde der elastischen Faserfärbung.

Dolomit und Bleiglanz: M. 75 (Exposition 1 Woche, sofort getötet); reichliche interstitielle Staubablagerung; mäfsige Bronchitis.

M. 76 u. 77 (Exposition 1 Woche, getötet nach 1/2 Jahr). Sehr starke peribronchiale und perivaskuläre Rundzelleninfiltration in allen Lappen. Der rechte Oberlappen des M. 76 ist durch interstitielle Wucherung bis zu Dreiviertel induriert. Der rechte Mittellappen des M. 77 ist wieder in einen derben Knoten umgewandelt (s. Erzgestein); besteht nur aus Bindegewebe, das von zahlreichen Bronchialästen durchzogen ist; nirgends mehr eine alveoläre Struktur sichtbar. Um die Bronchiallumina hat sich eine besonders starke Rundzelleninfiltration entwickelt.

Sonst finden sich nur kleine Infiltrationsinseln in mäfsiger Zahl und eine mäfsige interstitielle Rundzelleninfiltration. Staubzellen lagern reichlich in allen Lungenlappen, desgleichen enthalten die Hilusdrüsen viel Staub.

Geringfügiger sind schon die Veränderungen, die durch eine zweite Gruppe der untersuchten mineralischen Staubarten herbeigeführt wurde; hierzu gehört der Sandstein, Porzellan, Zement, Chausseestaub, Glas, Galmei, sowie Tonschiefer und Grauwacke.

Akute Pneumonien wurden am häufigsten nach Chausseestaub beobachtet und zwar ebenso häufig wie nach Thomasschlacke. Sowohl nachdem der Chausseestaub sterilisiert war als in unsterilisiertem Zustande starben von je 3 Versuchstieren 2 an multiplen Bronchopneumonien am 4. bis 6. Tage der Exposition. Im übrigen wurde nur noch einmal nach Tonschiefer und Grauwacke bei K. 5 komplette lobäre Pneumonie im linken Oberlappen neben mehreren bronchopneumonischen Herden in beiden Unterlappen festgestellt.

Chronische Veränderungen: Dieselben erreichen lange nicht die Ausdehnung und Intensität wie bei der erstgenannten Gruppe. Die interstitielle Infiltration ist eine mehr gleichmäfsige oder mehr herdförmige; zugleich wuchern etwas die Alveolarepithelien; aber nur in sehr kleinem Umfange erfolgt der völlige Verschlufs der Luftbläschen entweder durch Kompression oder durch Wucherung der Alveolarepithelien oder durch Ausstopfung mit Staubzellen. Die Bronchien weisen meistens nur einen mittleren Grad der Reizung auf, vielfach enthalten sie nur ein amorphes Exsudat. Allerdings ist manchmal eine erhebliche interstitielle Hyperämie anzutreffen.

Sandstein: M. 45 (Exposition 1 Woche, sofort getötet). Starke interstitielle Hyperämie, stärkere Blutungen am Lungenhilus; peribronchiale Rundzelleninfiltration; reichlicher Staub im Interstitium, vereinzelte Alveolargruppen werden von Staubzellen verschlossen.

M. 46 u. 47 (Exposition 1 Woche, getötet nach 1/2 Jahre); gleichmäfsige interstitielle Infiltration; schleimige Bronchitis; Staubgehalt der Lungen sehr spärlich, reichlich in den Hilusdrüsen, hier gröfstenteils freiliegend. (Staubreinigung.)

Porzellan: M. 35 (Exposition 1 Woche, sofort getötet); starke Hyperämie, Blutungen in die Alveolen; reichlicher Staub im interstitiellen

Gewebe; peribronchiale und perivaskuläre Infiltration; schleimigeitrige Bronchitis mit reichlichen Staubzellen, oder grofse, kantige, scharfe Staubsplitter, doch nur vereinzelt in den Bronchien.

M. 36 und 37 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr). Stärkere interstitielle Infiltration in dem Hauptbronchialstamm und stellenweise unter der Pleura; die peribronchialen Lymphknoten in der Lunge sind beträchtlich geschwollen und enthalten Staubzellen; schleimige Bronchitis, in manchen Lappen sehr viele Rundzellenknötchen. Staubzellen liegen überall im Interstitium und sind am reichlichsten in den infiltrierten Bezirken.

Zement: M. 33 (Exposition 1 Woche, getötet sofort); starke eitrige Bronchitis; reichliche Staubzellen und gröfsere kantige Staubtrümmer in den Bronchien; auch im interstitiellen Gewebe reichlich Staubzellen.

M. 34 u. 93. (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahre). Schleimig eitrige Bronchitis, Blutungen in die Bronchien: interstitielle, peribronchiale und perivaskuläre Infiltration mäfsig; fleckenweise starke Hyperämie; Staubzellen im Parenchym spärlich, reichlicher in den peribronchialen Lymphdrüsen innerhalb der Lunge und in den Hilusdrüsen.

Chausseestaub: M. 2 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr), mehr gleichmäfsige, interstitielle Infiltration; in der Umgebung der Bronchien enthalten die Alveolen oft reichlich Staubzellen, hier auch die Rundzelleninfiltration am dichtesten, so dafs das alveoläre Parenchym in kleinem Umfange ganz veröden kann; schleimigeitrige Bronchitis.

Glas: M. 12 (Exposition 1 Woche, sofort getötet); interstitielle Hyperämie, Blutungen in den Bronchien; schleimigeitrige Bronchitis; Staubzellen im interstitiellen Gewebe zahlreich.

M. 13 u. 78. (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr); unter der Pleura ausgedehnte Infiltrationsherde; wenig Staubzellen sichtbar.

Tonschiefer und Grauwacke: M. 16 u. 65 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr); gleichmäfsige, interstitielle Infiltration mäfsigen Grades.

Galmei: M. 22 (Exposition 1 Woche, sofort getötet). Starke interstitielle Hyperämie, stellenweise Blutungen; Staubzellen reichlich im Interstitium.

M. 21 u. 69 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr). Hyperämie der Unterlappen; interstitielle Infiltration am dichtesten in der Umgebung der Bronchien; hier auch die Staubzellen am reichlichsten; peribronchiale Lymphdrüsen in der Lunge sind stark geschwollen und enthalten reichlich Staubzellen. Schleimige Bronchitis.

Die dritte folgende Gruppe des mineralischen Staubes rief die geringsten Veränderungen in den Lungen hervor; oft ist das alveoläre Parenchym bis auf eine mehr oder minder reichliche Ablagerung von Staubzellen ganz intakt, oder es bestehen knötchenförmige, umschriebene Infiltrationsherde, die gegen die Umgebung mehr oder minder abgeschlossen sind. Gerade die

sehr reichliche Ablagerung des Staubes, die sich jedesmal unmittelbar nach der Exposition nachweisen liefs, im Vergleich mit den geringfügigen Veränderungen charakterisieren diese Staubsorten als weniger gefährlich; hierzu gehören: Granit, Marmor, Gips, Ziegel, Blende.

Granit: M. 48. (Exposition 1 Woche, sofort getötet); reichliche Staubzellen im interstitiellen Gewebe und in den Alveolen.

M. 49 u. 50 (Exposition 1 Woche, getötet nach ½ Jahr); geringe peribronchiale und perivaskuläre Infiltration, Parenchym sonst gut erhalten; schleimige Bronchitis, stellenweise in den Alveolen Staubpfröpfe, sonst Staubzellen im interstitiellen Gewebe spärlich.

Marmor: M. 11 (Exposition 1 Woche, sofort getötet) = Granit.

M. 78 u. 79 (Exposition 1 Woche, getötet nach ½ Jahr); zahlreiche Knötchen in sämtlichen Lappen, die aus Alveolengruppen bestehen, mit Staubzellen vollgepfropft sind, und deren Umgebung mit Rundzellen infiltriert ist.

Gips: M. 10 (Exposition 1 Woche, sofort getötet) = Granit.

M. 80 u. 84 (Exposition 1 Woche, getötet nach ½ Jahr). Interstitielle Infiltration in den Hauptbronchien; schleimige Bronchitis; Staubzellen im interstitiellen Gewebe spärlich.

Ziegel: M. 9 (Exposition 1 Woche, sofort getötet) und M. 86 und 87 (Exposition 1 Woche, getötet nach ½ Jahr); reichliche Staubnester um die Bronchien und Gefäfse, schleimige Bronchitis.

Blende: M. 20 (Exposition 1 Woche, sofort getötet) = Granit.

M. 94 u. 95 (Exposition 1 Woche, getötet nach ½ Jahr); keine Staubzellen in der Lunge; unbedeutende interstitielle Infiltration (Staubreinigung.)

Organische Staubarten.

Von den untersuchten organischen Staubarten sind bei weitem die gefährlichsten Holz, Elfenbein, Hanf, Tabak, Horn.

Holzstaub (von Piment, also einer harten Holzsorte) zeichnet sich dadurch aus, dafs er sehr heftige, eitrige Bronchitiden erzeugt; in dem eitrigen Exsudat sind Holzfaserfragmente sehr reichlich eingelagert, kleine Bronchien werden durch dieselben sogar ganz verstopft. Mikroskopisch erkennt man, dafs die Staubfragmente in die Mucosa, diese zerstörend, sich einspiefsen, infolgedessen einen sehr festen Halt bekommen, was die Tatsache erklärt, dafs die Arbeiter sich über schweres Abhusten solchen Staubes beklagen; Verhältnisse, wie sie auch bei dem Jutestaub zutreffen (Roth). Die Bronchitis erstreckte sich bei allen den Versuchstieren gleichmäfsig über sämtliche Lappen. In der Umgebung grofser Bronchien findet man starke Hyperämie. Bronchopneumonien wurden bei zwei Versuchstieren besonders im rechten Unterlappen beobachtet; Blutungen sind unter der Pleura häufig

anzutreffen. Das alveoläre Parenchym war gut erhalten; Staub in demselben nirgends sichtbar. Alle drei Tiere starben während der Exposition am 5. resp. 6 Tage.

Elfenbein: führte bei 2 Tieren durch akute Pneumonien zum Tode. (M. 30 † am 4. Tage; M. 68, Exposition 1 Woche, † am 14. Tage.) Die Pneumonien waren ausgedehnt, betrafen am häufigsten die Oberlappen, ferner die Hiluszipfel der Unterlappen, daneben starke eitrige Bronchitis; reichlich Staubzellen im interstitiellen Gewebe und innerhalb der pneumonischen Partien.

M. 31 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr) wies starke Verödung aller Lappen durch interstitielle Infiltration und Wucherung auf; daneben beträchtliche Hyperämie und starke eitrige Bronchitis; Staubgehalt der Lunge gering, reichlicher in den Hilusdrüsen (Staubreinigung.)

Hanf: M. 7. (Exposition 1 Woche, sofort getötet), reichlich Staubzellen im interstitiellen Gewebe; mäfsige Bronchitis und interalveoläre Infiltration.

M. 66 u. 69. (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr), gleichmäfsige interstitielle Verdichtung des Gewebes mit stärker hervortretender peribronchialer und perivaskularer Rundzelleninfiltration; schleimigeitrige Bronchitis, geringer Gehalt an Staubzellen im interstitiellen Gewebe; die Staubzellen schliefsen feine Fäserchen und Splitterchen ein Bei M. 66 ist ein linksseitiger Nebenlappen analog wie bei Erzgestein oder wie bei Dolomit und Bleiglanz in ein derbes, fibröses Gewebe umgewandelt, das nirgends mehr Alveolarstruktur erkennen läfst, das aber von weiten, buchtigen, vielfach verzweigten Bronchialgängen durchzogen wird; herdförmige Rundzellenanhäufungen enthalten besonders in der Umgebung der Bronchien vielfach Staubzellen; sonst sind letztere nur spärlich anzutreffen.

Tabak: M. 4. (Exposition 1 Woche, sofort getötet); reichlich Staubzellen; schleimigeitrige Bronchitis; interstitielle Rundzelleninfiltration.

M. 23 u. K. 11 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr); herdförmige Verödungen des alveolaren Parenchyms durch interstitielle Wucherung unter starker Hyperämie; dieselben nehmen ca. ein Dritteil der Lappen ein und führen bei M. 23 zur völligen Verdichtung des rechten Unterlappens; hier Blutungen in den noch restierenden Alveolen; schleimigeitrige Bronchitis, Staubgehalt spärlich.

Horn: M. 55 (Exposition 1 Woche) starb nach 14 Tagen an Bronchopneumonie der beiden Oberlappen; feinkörniger Staub in Zellen um die Bronchien gelagert.

M. 56 u. 57 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr). Die interstitielle Wucherung beschränkt sich hauptsächlich auf die Umgebung der Bronchien, führte nur in einem Falle zur kompletten Verdichtung des rechten Unterlappens bei M. 56. Sonst fallen die zahlreichen und grofsen Randzellenknoten in der Umgebung der Bronchen und Gefäfse überall auf; im Zentrum Staubzellen führend. Schleimige Bronchitis; Staubgehalt gering, hauptsächlich um die Bronchien abgelagert, im Interstitium sehr spärlich.

Die Veränderungen, die durch den Staub aus einer Getreidemühle hervorgerufen wurden, sind zu denen mittleren Grades zu rechnen. M. 39 starb nach 3tägiger Exposition an Bronchopneumonie; besonders in den Hiluszipfeln der einzelnen Lungenlappen waren gröfsere Infiltrate nachweisbar, im interstitiellen Gewebe lagerten reichlich Staubzellen, die einen feinkörnigen, augenscheinlich mineralischen Staub führten, daneben bestand schleimig eitrige Bronchitis mit feinen Härchen und Splitterchen (Pflanzenfaserreste) im Exsudat.

M. 38 und 65 (Expos. 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr). Die chronischen, interstitiellen Verdichtungen beschränken sich ausschliefslich auf die Umgebung der Bindegewebssepten, so dafs diese vom Hilus aus als breite Streifen das sonst gut erhaltene alveolare Parenchym durchziehen; schleimig eitrige Bronchitis, peribronchiale Rundzellenherde; Staubzellen spärlich, hauptsächlich in den infiltrierten Partien.

Am wenigsten gesundheitsschädlich erwies sich der Staub von Leder, Papier und Filz; alle drei Sorten riefen eine schleimig-eitrige Bronchitis hervor, in deren Exsudat Staubtrümer eingebettet lagen, während im interstitiellen Gewebe keinerlei Staub sich befand; am häufigsten waren die spitzigen Zellrudimente des Lederstaubes anzutreffen; Filzhärchen waren nur nach längerem Suchen zu finden; infolge von Filzstaub entwickelten sich bei M. 40 Bronchopneumonien, die im Hilus des rechten Unterlappens einen grofsen Herd bildeten, aber nicht zum Tode führten, sondern bei der Untersuchung der Lungen am Schlufs der Expositionszeit entdeckt wurden.

Bei den nach Ablauf eines halben Jahres getöteten Versuchstieren aller drei genannten Staubarten trug die Bronchitis einen fast ausschliefslich schleimigen Charakter; interstitielle Wucherungen waren nur in der Umgebung gröfserer Bronchien vereinzelt sichtbar, am häufigsten nach Inhalation von Filzstaub.

Schliefslich ist zu erwähnen, dafs die Inhalation von Kohlenrufs, obwohl derselbe reichlich in den Bronchien, den Alveolen und dem interstitiellen Gewebe sich ablagerte, keinerlei nennenswerte Veränderungen der Lungen zur Folge hatte.

Unter den metallischen Staubarten Bronze und Eisen erwies sich am schädlichsten erstere.

Bronze: M. 51 (Exposition 1 Woche, sofort getötet), gleichmäfsige, interstitielle Infiltration, peribronchiale und perivaskuläre Rundzelleninfiltration; schleimigeitrige Bronchitis. Staubzellen mäfsig reichlich.

M. 52 u. 53 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr), Verdichtungen durch interstitielle Wucherung hauptsächlich um die Bronchien; schleimigeitrige Bronchitis; bei M. 52 ist der rechte Oberlappen, bei M. 53 der linke Oberlappen nahezu völlig verödet; starke Hyperämie um die Bronchien; Staubzellen nirgends sichtbar.

Eisen: M. 32 starb am 7. Tage an kompletter Pneumonie des rechten Oberlappens, sowie Bronchopneumonie im linken Oberlappen; starke Hyperämie; sehr reichlicher Staubgehalt hauptsächlich in Zellen abgelagert im pneumonischen Exsudat und dem interstitiellen Gewebe, sowie in den Bronchien, die schleimigeitrigen Katarrh aufweisen.

M. 28 u. 29 (Exposition 1 Woche, getötet nach $^1/_2$ Jahr), fleckförmige Hyperämie, geringe Infiltration, wenig Staub (Staubreinigung).

Zusammenfassend läfst sich folgendes sagen:

1. Je feinkörniger eine Staubart ist, desto leichter wird sie nicht nur eingeatmet, desto leichter gelangt sie vielmehr auch in das interstitielle Lungengewebe; hier ist sie stets reichlich abgelagert anzutreffen und nach dem Grade ihrer Schädlichkeit ruft sie pathologische Veränderungen verschiedener Ausdehnung hervor. Diese stellen sich entweder als akute, katarrhalische Lungenentzündungen dar oder bestehen in chronischen interstitiellen Wucherungen von flächenhafter Ausdehnung, so dafs ganze Lappen veröden können. Die Alveolarepithelien beteiligen sich mehr oder minder stark an dem Wucherungsprozefs; gegebenenfalls so beim Kalkspat können dieselben ganz überwiegen.

In erster Linie tragen die mineralischen und metallischen Staubarten den feinkörnigen Charakter, den man jedoch auch bei den organischen Stoffen, so dem Tabak, Hanf. Elfenbein und besonders Kohle antrifft; dieselben gleichen also in ihrer Wirkungsweise den Mineralien und Metallen.

2. Viele andere organische Substanzen dagegen, wie Holz, Leder, Filz, Papier geben einen mehr gröberen, faserigen Staub, dessen oft spitze und scharfe Fragmente nicht in das interstitielle

Lungengewebe eindringen, sondern sich in den Bronchien festsetzend, hier vornehmlich ihre Wirkung entfalten, indem sie mehr oder minder starke eitrige oder schleimigeitrige Katarrhe erzeugen; von letzteren aus entwickeln sich Bronchopneumonien oder chronische, interstitielle Wucherungen, die sich vornehmlich um die Bronchien gruppieren. In das interstitielle Gewebe gelangen nur gelegentlich feine Teilchen der gröberen Fragmente.

3. Im Widerspruch mit den Beobachtungen Arnolds, der erst nach monatelanger Einwirkung gröbere Lungenveränderungen nachweisen konnte, lehren diese Versuche, dafs schon nach einer relativ kurzen Inhalationsdauer (1 Woche) sich im Laufe der Zeit ($^1/_2$ Jahr), währenddessen eine Staubeinatmung ausgeschlossen war, sich die schwersten Lungenveränderungen entwickeln können, falls eine genügende Menge gesundheitsschädlichen Staubes in die Lungen dringt, da die Staubreinigung sich sehr allmählich vollzieht.

4. Die Staubreinigung kann auch recht verschieden ablaufen, so war sie z. B. beim Sandstein, Elfenbein, besonders auch bei Blende und auch Schamotte nach Ablauf eines halben Jahres fast komplett, während zu dieser Zeit Reste, z. B. von Dolomit und Bleiglanz, Kalkspat, Erzgestein, Marmor, Granit, Ziegel, Thomasschlacke sogar noch in den Alveolen deutlich nachweisbar waren.

5. Es können indes auch Staubarten, bei denen sich die Reinigung der Lungen relativ leicht vollzieht, wie z. B. Schamotte, nichtsdestoweniger sehr erhebliche Veränderungen zurücklassen.

6. Einen Überblick über die Gefährlichkeit der verschiedenen Substanzen, mit denen experimentiert wurde, gibt folgende Zusammenstellung:

Am schädlichsten waren: Schamotte, Thomasschlacke, Kalkspat, Erzgestein, Dolomit und Bleiglanz, Bronze, Holz, Elfenbein, Hanf, Tabak, Horn.

Weniger gefährlich waren: Sandstein, Porzellan, Zement, Glas, Chausseestaub, Tonschiefer und Grauwacke, Galmei, Staub aus einer Getreidemühle.

Relativ ungefährlich waren: Granit, Marmor, Gips, Ziegel, Blende, Leder, Papier, Filz und besonders Kohlenrufs.

7. Aus den erheblichen Unterschieden, die die oben beschriebenen Lungenprozesse an Ausdehnung und Intensität aufweisen, als auch aus der speziellen Wirkungsweise mancher Staubarten (z. B. Holz) ergibt sich, dafs die verallgemeinernde Anwendung der Beobachtungen (Arnold S. 142), die Arnold mit Sandstein, Smirgel, Rufs und Ultramarin gewann, auf andere Staubarten nicht ohne weiteres zulässig ist; es scheint vielmehr notwendig, sich über den einzelnen Fall vermittelst des Experimentes zu orientieren, indem zum Vergleich eine in ihrer Wirkung bekannte Staubart, z. B. der unschädliche Kohlenrufs, genommen wird.

Unter Umständen erscheint eine solche Untersuchung auch insofern von grofsem praktischen Wert, als nach tödlichen Lungenentzündungen, die infolge von Staubeinatmung sich entwickelten, mit Erfolg Schadenersatzansprüche auf Grund der Unfallgesetzgebung schon erhoben sind, so in einem mir bekannten Falle, wo beim Abladen von Thomasschlackenmehl ein Sack im Schuppen platzte, so dafs sich plötzlich eine enorme Staubwolke entwickelte, die der Arbeiter einzuatmen gezwungen war; die Staubsplitter waren vermittelst der Berliner Blaureaktion in dem pneumonischen Exsudat leicht nachweisbar; auf Grund letzterer Tatsache Anerkennung der Ansprüche.

Herrn Dr. Pielicke bin ich für die Anregung zur Arbeit und Unterstützung bei derselben zu ergebenem Danke verpflichtet.

Literatur.

Arnold: Unters. üb. Staubinhalation und Staubmataetase. Leipzig 1885.
Roth: Kompend. d. Gewerbekrankheiten. Berlin 1904.
Rubner: Lehrbuch d. Hygiene. Leipzig 1903.
Albrecht; Handbuch d. prakt. Gewerbe-Hygiene. Berlin.
Wegmann: Archiv f. Hygiene. Bd. XXI.
Sommerfeld: Die Berufskrankheiten der Steinmetze und Steinbildhauer. Berlin 1892.